Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Untersuchungen zur Standardisierung von Gonadotropin-Releasing-Aktivität

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Fritz Schumm
aus Künzelsau

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547612_0106

Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Untersuchungen zur Standardisierung von Gonadotropin-Releasing-Aktivität

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Fritz Schumm
aus Künzelsau

1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. J. Hirschmann

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. R. Blobel
Professor Dr. H. Roemer

2. Berichterstatter: Professor Dr. J. Bierich

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG • Tübingen

Meinen Eltern in Dankbarkeit

Herrn Dozent Dr. R. Blobel, auf dessen Anregung hin diese Arbeit entstand, danke ich für wertvolle Ratschläge und das Interesse, das er dem Fortgang der Arbeit entgegenbrachte.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
0.	Einleitung	1
1.	Ausgangspunkt	1
1.1.	Vermutung eines "nervösen Zentrums" der Geschlechtsfunktion	1
1.2.	Zur Entwicklungsgeschichte und Anatomie	1
2.	Experimenteller Nachweis eines nervösen Zentrums im Hypothalamus	2
2.1.	Durchtrennung des Hypophysenstiels	2
2.2.	Elektrische Stimulation des Hypothalamus	3
2.3.	Hypothalamische Läsionen	3
2.4.	Einfluß anderer Gebiete des Zentralnervensystems auf die Geschlechtsfunktion	6
2.4.1.	Nucleus amygdaleus	6
2.4.2.	Corpus pineale	6
2.5.	Zusammenfassung	7
3.	Wirkungsprinzip des Hypothalamus auf den Hypophysenvorderlappen	7
3.1.	Vorbemerkung	7
3.2.	Experimenteller Nachweis eines spezifischen humoralen Einflusses auf die Hypophyse	8
3.2.1.	Transplantation von Hypophysen	8
3.2.2.	Hypothalamische Extrakte	8
3.2.2.1.	Species, bei denen der Luteinisierungs-Hormon-Releasing Faktor durch in vivo und in vitro Versuche in Hypothalamusextrakten nachgewiesen werden konnte	9
3.2.2.2.	Species, bei denen der Follikel-Stimulierungs-Hormon-Releasing-Faktor durch in vivo und in vitro Versuche in Hypothalamusextrakten nachgewiesen werden konnte	9
3.3.	Charakterisierung der Gonadotropin-Releasing-Faktoren	10
3.3.1.	Wo werden die Gonadotropin-Releasing-Faktoren gebildet?	10
3.3.2.	Abhängigkeit der Gonadotropin-Releasing-Aktivität vom Alter des Individuums?	10
3.3.3.	Beziehung zwischen Gonadotropin-Releasing-Aktivität und dem Genitalcyclus	11

3.3.4.	Gonadotropin-Releasing-Aktivität nach Gonadektomie oder Oestrogenimplantation in den Hypothalamus oder in die Hypophyse	11
3.3.5.	Trennung der Gonadotropin-Releasing-Faktoren von anderen im Hypothalamus vorhandenen Substanzen	11
3.3.6.	Physikalische Eigenschaften der Gonadotropin-Releasing-Faktoren	12
3.3.7.	Chemische Eigenschaften der Gonadotropin-Releasing-Faktoren	13
3.3.8.	Molekulargewicht	13
3.3.9.	Wirkungsweise	13
4.	Regelung der Gonadenfunktion	14
4.1.	Experimenteller Nachweis der einzelnen Regelkreise	15
4.1.1.	Oestrogensensitive Strukturen im Hypothalamus	15
4.1.2.	Wirkung der Sexualhormone	16
4.1.2.1.	Negativer Feedback	16
4.1.2.2.	Positiver Feedback	17
4.1.3.	Nachweis einer direkten Rückkoppelung zwischen Ovar und Hypophyse	18
4.1.4.	Nachweis eines sogenannten kleinen Rückkoppelungsmechanismus zwischen dem Hypophysenvorderlappen und dem Hypothalamus	19
5.	Die Sexualfunktion als kybernetischer Regelkreis und ihre Beeinflussung von außen	20
6.	Ausgangspunkt für den experimentellen Teil der Arbeit	21
6.1.	Notwendigkeit der Standardisierung von Gonadotropin-Releasing-Faktoren	21
6.2.	Welche Substanzen beeinflussen das Hypophysen-Hypothalamus System?	21
6.2.1.	Übersicht über Substanzen, die die Ausschüttung von FSH und LH aus der Hypophyse hemmen	21
6.2.1.1.	Reserpin	21
6.2.1.2.	Neuroplegika	22
6.2.1.3.	Barbitursäurederivate	23

6.2.1.4.	Morphin	23
6.2.1.5.	Serotonin	23
6.2.1.6.	Anticholinergica	24
6.2.1.7.	Antiadrenergica	24
6.2.2.	Substanzen, die das Hypothalamus-Hypophysen-System zur Gonadotropinsekretion stimulieren	25
7.	Fragestellung der Arbeit	30
7.1.	Material und Methodik	30
7.1.1.	Oestrogenpräparat	30
7.1.2.	Standardsubstanzen	31
7.1.3.	Versuchstiere	31
7.2.	Methodik	31
7.2.1.	Methode des Nachweises der Gonadotropin-Releasing-Aktivität von Oestronsulfat	31
7.2.2.	FSH-Test nach Steelman und Pohley (1953)	33
7.2.3.	LH-Test, abgeändert nach Parlow (1958)	34
7.2.4.	Aufarbeitung der Hypophysen, modifiziert nach Parlow (1964)	37
7.2.5.	Rechnerische Auswertung der Ergebnisse	38
8.	Versuche und Ergebnisse	39
8.1.	Versuchsgruppe 1	39
8.2.	Versuchsgruppe 2	40
8.3.	Versuchsgruppe 3	48
8.4.	Versuchsgruppe 4	52
8.5.	Versuchsgruppe 5	52
9.	Diskussion	55
10.	Zusammenfassung	59
11.	Literaturverzeichnis	61

0. Einleitung

Die Kenntnisse über die Steuerung der Sexualfunktion bei Mensch und Tier wurden in den letzten Jahren durch subtile experimentelle Versuche an Tieren verschiedener Species und durch klinische Beobachtungen am Menschen vertieft. Ein Teil der aus Tierversuchen gewonnenen Erkenntnisse scheint auch auf den Menschen übertragbar zu sein.
Vorliegende Arbeit hat zum Ziel, eine Standardsubstanz für Gonadotropin-Releasing Faktoren zu finden, auf die ihre Releasing Aktivität bezogen werden kann. Zuvor soll die zentrale Steuerung der Gonadenfunktion kurz beschrieben werden.

1. Ausgangspunkt

1.1. Vermutung eines "nervösen Zentrums" der Geschlechtsfunktion

1932 hatten Hohlweg und Junkmann auf Grund ihrer Untersuchungen ein "nervöses Zentrum" im Zentralnervensystem vermutet, das die Gonadotropinsekretion der Adenohypophyse reguliert und damit die Funktionen der Gonaden und der sekundären Geschlechtsorgane steuert.

1.2. Zur Entwicklungsgeschichte und Anatomie.

Die Adenohypophyse entwickelt sich in den ersten Tagen des embryonalen Lebens aus dem ectodermalen Dach der Mundbucht und wandert als "Ratke'sche Tasche" zur Gehirnbasis und verbindet sich mit dem Boden des Zwischenhirns (Starck 1965). Schon aus teleologischen Gründen ist zu erwarten, daß der Hypothalamus derjenige Teil des Zentralnervensystems ist, der einen Einfluß auf die Adenohypophyse hat.

Popa und Fielding beschrieben 1930 ein Portalgefäßsystem, das den Hypophysenvorderlappen (HVL) mit der Eminentia mediana verbindet. Sie glaubten, daß das Blut zum Hypothalamus hinfließt. Green und Harris (1947) stellten jedoch durch Injektion von Tinte fest, daß das Blut von der Eminentia mediana zum HVL strömt. Auf Grund ihrer Beobachtungen nahmen sie an, daß der Hypothalamus neurohumoral den HVL kontrolliert, d.h. daß Nervenstrukturen des Hypothalamus humorale Substanzen in das Portalgefäßsystem der Eminentia mediana sezernieren, die dann mit dem Blutstrom zur Adenohypophyse gelangen und sie beeinflussen.
1954 beschrieben Scharrer und Scharrer das Phänomen der Neurosekretion am Tractus supraopticohypophysealis. Sie beobachteten anfärbbares Material, das entlang der Axone in dem Tractus zum Hypophysenhinterlappen (HHL) wandert. Diese Tatsachen waren Kriterien, die ein nervöses Zentrum im Hypothalamus und eine neurohumorale Verbindung auch zum HVL denkbar erscheinen ließen.

2. Experimenteller Nachweis eines nervösen Zentrums im Hypothalamus.

2.1. Durchtrennung des Hypophysenstiels.
Wird die Verbindung der Hypophyse zum Hypothalamus bei Kaninchen durchtrennt, atrophieren die Gonaden (Harris 1937). Bei Ratten kann nach einem solchen Eingriff der "Hohlweg Effekt" (siehe unten) nicht mehr nachgewiesen werden (Westmann und Jacobsohn 1938). Barnett und Greep (1951) zeigten, daß an kastrierten Ratten mit durchtrenntem Hypophysenstiel die Ausbildung der typischen morphologischen Veränderungen des HVL wohl gehemmt jedoch nicht vollständig verhindert wurde. Bei Ratten mit solchen Läsionen hörte der Cyclus auf, begann aber nach Regeneration des

Portalgefäßsystems wieder. Wurde ein Papierstreifen zwischen die Enden gesetzt, blieben die Tiere acyclisch. Harris (1952) postulierte, daß die Integrität des Pfortadersystems, in dem neurohumorale Stoffe transportiert werden, für die normale Funktion des Hypophysenvorderlappens und damit der Gonaden entscheidend ist.

2.2. Elektrische Stimulation des Hypothalamus.
Kaninchen ovulieren nach elektrischer Stimulation des Hypothalamus (Haterius und Derbyshire 1937). Dies wurde im selben Jahr von Harris bestätigt, der jedoch auch hämorrhagische Follikel bei anaesthesierten Kaninchen nach Reizung der Hypophyse sah. Zu denselben Ergebnissen kamen Markee, Sawyer und Hollinshead (1946), Ovulation nach elektrischer Reizung der Hypophyse konnten sie dagegen nicht nachweisen. Harris erkannte 1955 die Korrektur an und sah seine Hypothese der neurohumoralen Reizübertragung vom Hypothalamus zur Hypophyse gefestigt.
Bilaterale Implantation von Elektorden in die Eminentia mediana des Hypothalamus von Kaninchen führte nach 30 Minuten zu einer Erhöhung des Progestingehaltes in der Ovarvene. Hayward, Hilliard und Sawyer (1964) interpretierten die Erhöhung des Progesterongehaltes als Folge einer sofortigen, durch den Reiz induzierten LH-Ausschüttung der Hypophyse. Everett pflanzte 1965 Platinelektroden in das präoptische Gebiet des Hypothalamus von Ratten ein, deren Spontanovulation durch Pentobarbital blockiert war. Niedere Stromstöße lösten Ovulation aus. Mutterschafe reagieren in derselben Weise (Radford 1967).

2.3. Hypothalamische Läsionen.
Bei Meerschweinchen bewirkte die stereotaktische Zerstörung der Eminentia mediana eine Unterbrechung des

Cyclus und eine Atrophie der Gonaden; die des Hypothalamus anterior einen Daueroestrus, wobei die Ovarien mit Graaf'schen Follikeln angefüllt waren. Verletzungen an anderen Stellen des Hypothalamus beeinträchtigen zwar nicht den Cyclus, hemmen jedoch das Brunstverhalten (Dey 1943). Bestätigt wurden diese Ergebnisse von Hillarp (1949) und Flerkó (1954) an Ratten. Läsionen am Hypothalamus männlicher Ratten führen zu einer Regression der gonadotrophen Zellen des HVL und senken den Gonadotropingehalt der Hypophyse. Die Testes und die accessorischen Geschlechtsdrüsen schwinden. Außerdem kann man nicht die nach Kastration typischen morphologischen Veränderungen des HVL beobachten (Bogdonave, Pirtos und Halmi 1955). Bei Schafen wird durch Zerstörung der Eminentia mediana die Läufigkeit, bei Ausschaltung präoptischer Areale das Brunstverhalten verhindert (Clegg, Santalucito, Smith und Ganong 1958). Bei Hennen kann durch Progesteron die Ovulation um 14 Stunden vorgezogen werden. Verletzungen im präoptischen Gebiet verhindern diesen Effekt (Ralph und Fraps 1959).

Werden die Nuclei paraventriculares zerstört, kommt es bei Ratten zur Verlängerung des Dioestrus und zur Hyperluteinisation der Ovarien. Offenbar werden Gebiete betroffen, die einen hemmenden Einfluß auf die Prolactinsekretion ausüben (Flerkó und Bardos 1960). Der LH-Anstieg im Plasma und in der Hypophyse nach bilateraler Ovariektomie wird durch Läsionen im vorderen Hypothalamus verhindert (Taleisnik und McCann 1961), und es kommt nicht zum "LH-Gipfel" zur Zeit des späten Dioestrus, der für die Ovulation wesentlich ist (Desclin, Flament-Durand und Gepts 1962)(Quinn und Zarrow 1965).

Um genauere Kenntnisse über die verschiedenen Kerngebiete des Hypothalamus zu erlangen, die die Adenohypophyse regulieren, machten Halász und Gorski (1967)

subtile Versuche. Sie trennten den Nucleus arcuatus der Eminentia mediana durch Messerschnitte vollkommen von den Nervenzuflüssen des anterioren Hypothalamus ab. So operierte Ratten ovulierten nicht mehr. Wird zum anderen die Hypophyse aus der Sella turcica in den Hypothalamus transplantiert, so behält nur das Transplantat im Gebiet des Nucleus arcuatus die normale Morphologie. Halász und Gorski schlossen, daß der vordere Hypothalamus zur Zeit des späten Dioestrus Impulse an den posterioren Hypothalamus weitergibt, der die Hypophyse zur Ausschüttung von genügend LH stimuliert, um eine Ovulation auszulösen. Auf Grund ihrer Versuche unterscheiden sie nun zwei Gebiete im Hypothalamus, die für die Ausschüttung von Gonadotropinen verantwortlich sind:

1.) Der anteriore Hypothalamus reguliert den für die Ovulation essentiellen "LH-Gipfel".
2.) Der posteriore Hypothalamus mit dem Nucleus arcuatus reguliert die "Basissekretion" von Gonadotropin aus der Hypophyse.

Ramaley und Gorski (1967) und Tejazen und Everett(1967) kamen durch ähnliche Versuche zu denselben Ergebnissen. Jedoch scheinen noch andere Gebiete des Hypothalamus die Gonadenfunktion zu beeinflussen. Das sogenannte Mating-Center wird nach Beobachtungen bei Tierversuchen in die prämamilläre Region lokalisiert. Zerstörung der Mamillarkörper hemmt das Brunstverhalten. Die Ovarien waren nach diesem Eingriff unverändert, und die Kaninchen reagierten auf intravenöse Kupfersulfatinjektion mit Ovulation (Sawyer 1957). Wird Kaninchen Oestrogen in diese Hypothalamusregion implantiert, zeigen die Tiere deutliches Brunstverhalten (Palka und Sawyer 1966).

2.4. Einfluß anderer Gebiete des Zentralnervensystems auf die Geschlechtsfunktion.

2.4.1. Nucleus amygdaleus.

Histologisch und histochemisch konnten vom Nucleus amygdaleus afferente Fasern zu den Kerngebieten des Hypothalamus nachgewiesen werden. Die Hauptafferenzen laufen direkt über den Tractus amygdalohypothalamicus zum Nucleus ventromedialis. Der geringere Teil über die Stria terminalis zum anterioren Hypothalamus (Szentágothai, Flerkó, Mess und Halász 1968).
Juvenile Ratten werden nach Elektrokoagulation des Nucleus amygdaleus und des vorderen Hypothalamus vorzeitig geschlechtsreif (Elwers und Chritchlow 1960). Läsionen am basolateralen Amygdaloid-Komplex senken bei der Maus den Luteinisierungshormon-Releasing-Faktor (LH-RF) - Gehalt in der Eminentia mediana und erhöhen den Plasma-Luteinisierungshormon (LH)-Spiegel (Eleftheriou, Zolovick und Norman 1967).

2.4.2. Corpus pineale.

Wird weiblichen Ratten die Pinealdrüse entfernt, kann man eine Ovargewichtszunahme (Wurtman, Roth, Altschule und Wurtman 1961) und in der Hypophyse eine signifikant erhöhte Mitoserate beobachten (Bindoni und Raffaele 1968).
Melatonin, das Hormon der Pinealdrüse, wird aus Serotonin durch das Enzym Hydroxyindol-O-Methyl-Transferase synthetisiert. Dieses Enzym wurde bisher nur in der Pinealdrüse nachgewiesen (Wurtman, Axelrod und Fischer 1964). Bei unreifen Ratten verzögert Melatonininjektion die Pubertät und senkt das Hypophysengewicht und das der Gonaden (Fraschini und Martini 1967). Implantiert man Pinealgewebe oder Melatonin in die Eminentia mediana des Hypothalamus, so sinkt der LH-Gehalt in der Hypophyse und im Serum. Eine Implantation in die Hypophyse selbst hatte

keine Wirkung (Fraschini, Mess und Martini 1968).

2.5. Zusammenfassung

Die experimentellen Ergebnisse fordern eine Unterscheidung verschiedener Gebiete im Hypothalamus und im Zentralnervensystem, die die gonadotrope Funktion der Hypophyse und damit die Genitalfunktion beeinflussen:

1.) Der anteriore Hypothalamus scheint die cyclische Abgabe von LH, die für die Ovulation notwendig ist, zu regulieren.
2.) Der posteriore Hypothalamus mit dem Nucleus arcuatus und den Nuclei ventromediales steuert die Basissekretion von Gonadotropinen, die aber für eine Ovulation nicht ausreichen.
3.) Das Mating Center ist wahrscheinlich in der prämamillären Region lokalisiert.
4.) Hemmende Einflüsse üben offenbar der Nucleus amygdaleus und der Corpus pineale aus.

Diese Aufteilung ist jedoch viel zu streng. Andere Hirnregionen scheinen diesen Kerngebieten bei- oder übergeordnet zu sein. Afferente Nervenfasern wurden von der Formatio reticularis und dem Limbischen System zum Hypothalamus nachgewiesen (Szentâgothai, Flerkó, Mess und Halász 1968). Stimuli aus diesen Gebieten sind wohl in das Sexualverhalten mitvermascht, genauso wie solche aus dem Cortex.

3. Wirkungsprinzip des Hypothalamus auf den Hypophysenvorderlappen.

3.1. Vorbemerkung

Green und Harris (1947) vermuteten eine neurohumorale Reizübertragung vom Hypothalamus zur Hypophyse. Ihre

Hypothese wurde unterstützt durch die Erfahrungen, die man durch elektrische Stimulationsexperimente am Hypothalamus und an der Hypophyse gewonnen hatte.

3.2. Experimenteller Nachweis eines spezifischen humoralen Einflusses auf die Hypophyse.

3.2.1. Transplantation von Hypophysen.
Eine Transplantation von Rattenhypophysen in das Auge oder in die Niere hatte eine Hyperluteinisation der Ovarien und ein Ausbleiben des Cyclus zur Folge. Nach einer Reimplantation der Hypophysen in die Sella turcica stellte sich ein normaler Cyclus wieder ein (Nikitowitch-Winer und Everett 1958). Diese Forscher schlossen daraus, daß die Entfernung der Hypophyse aus ihrer Verbindung zum Hypothalamus zu einer verstärkten Sekretion von luteotropem Hormon und zur Hemmung der Ausschüttung von FSH (Follikelstimulierendes-Hormon) und LH führt. Da Nerven so schnell nicht regenerieren können, vermuten sie, daß neurohumorale Faktoren aus dem Hypothalamus für dieses Phänomen verantwortlich sind. Dies bestärkten die Untersuchungen von Halász, Pupp und Uhlaric (1962), die HVL-Gewebe in den basalen Hypothalamus verpflanzten. Ihr Transplantat zeigte trotz Trennung von Nerven- und Gefäßversorgung eine normale Funktion.

3.2.2. Hypothalamische Extrakte.
Saffran, Schally und Benfey (1955) und unabhängig von ihnen Guillemin und Rosenberg (1955) konnten durch in vivo und in vitro Versuche einen Releasing-Faktor in Hypothalamusextrakten von Ratten und Hunden nachweisen, der Adrenocorticotropes-Hormon aus der Hypophyse freisetzt. Derartige Releasing-Faktoren konnten in den letzten Jahren für FSH und LH im Hypothalamus verschiedener Species gesichert werden.

3.2.2.1. Species, bei denen der Luteinisierungs-Hormon-Releasing-Faktor (LH-RF) durch in vivo und in vitro Versuche in Hypothalamusextrakten nachgewiesen werden konnte.

Ratte:	McCann, Taleisnik und Friedmann (1960) Nikitowitch-Winer (1962) Jutisz, Berault Novella und Ribot (1967)
Kaninchen:	Campbell (1964) Endröczi und Hilliard(1965)
Schaf:	Schiavi, Jutisz, Sakiz und Guillemin(1963) Johnson (1963) Schally und Bowers (1964) Fawcett, Reed, Charlton und Harris (1968)
Hund:	Yamashita (1966)
Katze:	Campbell, Feuer und Harris (1964)
Schwein:	Arimura, Schally, Saito, Müller und Bowers (1967)
Rind:	Schally und Bowers (1964) Kuroshima, Ishida, Bowers und Schally (1965)
Affe:	Campbell, Feuer und Harris (1964)
Mensch:	De la Lastra und Croxatto(1964) Blobel, Schlumberger(1967) Schally, Müller, Arimura, Bowers, Saito, Redding, Sawano, Pizzolato(1967) Heller, Blobel,Schlumberger(1968)

3.2.2.2. Species, bei denen der Follikel-Hormon-Stimulierungs-Releasing-Faktor (FSH-RF) durch in vivo und in vitro Versuche in Hypothalamusextrakten nachgewiesen werden konnte.

Ratte:	Igarashi und McCann (1964) David,Fraschini und Martini (1965) Mittler und Meites (1966) Kobayashi, Kobayashi, Kigawa, Mizuno,Amenomeri, Watanabe und Ischakawa (1967)
Schaf:	Jutisz und Paloma de la Llosa (1967)
Schwein:	Saito,Arimura,Müller,Schally,Bowers(1967)
Rind:	Igarashi, Nallar und McCann (1964) Kuroshima, Arimura, Saito, Ishida, Bowers und Schally (1966)
Mensch:	Blobel, Schlumberger, Heller (1967) Schally, Müller, Arimura, Bowers, Saito, Redding, Sawano, Pizzolato (1967) Heller,

Blobel und Schlumberger (1967)

3.3. Charakterisierung der Gonadotropin-Releasing-Faktoren.

3.3.1. Wo werden die Gonadotropin-Releasing-Faktoren gebildet?

Der Bildungsort der Gonadotropin-Releasing-Faktoren ist bisher noch nicht sicher geklärt. McCann (1962) vermutete, daß sie in den Kerngebieten der suprachiasmatischen und supraoptischen Areale gebildet werden. Von dort sollen sie entlang der Nervenaxone zur Eminentia mediana gelangen. Dieser Theorie stehen folgende experimentellen Beobachtungen gegenüber: Zerstört man elektrolytisch die Eminentia mediana hypophysectomierter Ratten, so kann im peripheren Blut keine Gonadotropin-Releasing-Aktivität nachgewiesen werden, die bei hypophysectomierten Tieren ohne hypothalamische Läsionen vorhanden ist (Szentágothai, Flerkó, Mess und Halász 1968). Zum anderen stammen die aktivsten Präparationen von Gonadotropin-Releasing-Aktivität aus Extrakten der Eminentia mediana. Dies gilt sowohl für LH-RF (McCann und Dharival 1966)(Campbell, Feuer und Harris 1964), als auch für FSH-RF (Jutisz und Paloma de la Llosa 1967). Schließlich haben einige Forscher verschiedene Gebiete des Hypothalamus und des Cortex aufgearbeitet, wobei nur in der Eminentia mediana Gonadotropin-Releasing-Aktivität nachgewiesen werden konnte (Yamashita 1966).

3.3.2. Abhängigkeit der Gonadotropin-Releasing-Aktivität vom Alter des Individuums?

Die meisten Gonadotropin-Releasing Präparationen stammen von ausgewachsenen Tieren bzw. Menschen höheren Alters (Blobel und Schlumberger 1967 a,b). Auch bei neugeborenen Kaninchen konnte eine hohe Aktivität von Gonadotropin-Releasing-Faktoren nachgewiesen werden, die sich kaum von der ausgewachsener Tiere unterschied (Gallardo und Campbell 1965). Ramirez und McCann (1963)

konnten LH-RF in unreifen Ratten nachweisen. Diese Befunde lassen einen vom Alter abhängigen Aktivitätsunterschied fraglich erscheinen.

3.3.3. Beziehung zwischen Gonadotropin-Releasing-Aktivität und dem Genitalcyclus.

Die sonst etwa gleichmäßige LH-RF Aktivität des Hypothalamus sinkt am Abend des späten Diöstrus plötzlich ab, zu dem Zeitpunkt also, an dem die Hypophyse zur Ausschüttung von LH für die Ovulation stimuliert wird. (Chowers und McCann 1965). Aktivitätsunterschiede der FSH-RF Konzentration konnten während des Cyclus nicht nachgewiesen werden (Kragt, Dahlgren und Ganong 1968).

3.3.4. Gonadotropin-Releasing-Aktivität nach Gonadectomie oder Oestrogenimplantation in den Hypothalamus oder in die Hypophyse.

Die Aktivität von FSH-RF (Mittler und Meites 1966) und von LH-RF steigt nach Kastration bei Ratten an (Piaczek und Meites 1966).

Wird Oestrogen in die Hypophyse implantiert, kommt es zu einem Anstieg von LH-RF in der Eminentia mediana. Implantation von Oestrogen in dieses Hypothalamusgebiet senkt den LH-RF Gehalt (Chowers und McCann 1965).

3.3.5. Trennung der Gonadotropin-Releasing-Faktoren von anderen im Hypothalamus vorhandenen aktiven Substanzen.

Daß es sich bei den LH-RF und FSH-RF um verschiedene aktive Substanzen spezifischer Strukturen des Hypothalamus handelt, wurde schon im vorigen Kapitel (3.2.2.) gezeigt. Sie können einerseits auf Grund ihrer verschiedenen Wirkung durch biologische Teste, andererseits durch Trennungsverfahren gegeneinander abgegrenzt werden. Ihre Spezifität gegenüber dem Prolactininhibierenden Faktor konnte durch in vivo und in vitro Experimente nachgewiesen werden (Achally,Meites, Bowers und Ratner 1964)(Arimura, Saito, Müller,Bowers, Sawano und Schally 1967). Den Unterschied zu anderen

aktiven Substanzen im Hypothalamus belegten einerseits biologische Experimente, andererseits die chromatographische Auftrennung. Ihr Verhalten bei dieser chemischen Analyse erbringt Molekulargewichte, die denen von Oxytocin und Vasopressin ähnlich sind. Deren Aktivität wird durch Thioglycollat (Sprengung der Disulfidbrücken) zerstört. Die Wirkung von LH-RF und FSH-RF wird nicht beeinträchtigt (McCann und Dharival 1964). Durch biologische Experimente haben viele Forscher nachgewiesen, daß Vasopressin und Oxytocin in physiologischen Konzentrationen keinen Gonadotropin-Release verursachen (McCann, Taleisnik 1960) (Schally, Saito, Arimura, Müller, Bowers und White 1966).

Folgende im Hypothalamus nachgewiesenen Substanzen wurden auf ihre Gonadotropin-Freisetzungsfähigkeit getestet:

Adrenalin - Endröczi und Hilliard (1965)
Noradrenalin - Yamashita (1966)
Acetylcholin - Saito, Arimura, Müller, Bowers und Schally (1967)
Histamin - Nikitovitch-Winer (1962)
Serotonin - Campbell, Feuer und Harris (1964)
Substance P - McCann und Taleisnik (1960)
Spermine - Saito, Arimura, Müller, Bowers, Schally (1967)
Melatonin - De la Lastra und Croxatto (1964)
α und β MSH - Jutisz und De la Llosa (1967)

Sie konnten in physiologischer Dosis keine Gonadotropine aus der Hypophyse freisetzen.

3.3.6. Physikalische Eigenschaften der Gonadotropin-Releasing-Faktoren.

Mit Sicherheit ist bisher nur erwiesen, daß die Gonadotropin-Releasing-Faktoren hitzebeständig sind. Dieser Umstand kam der experimentellen Forschung sehr zustatten, weil dadurch die hitzelabilen Gonadotropine FSH und LH, die in den Extrakten von Gonadotropin-

Releasing Faktoren enthalten sind (Donald, Johnson und Nelson 1966) durch Kochen inaktiviert werden können (McCann 1962)(Ramirez,Nallar,McCann 1964).

3.3.7. Chemische Eigenschaften der Gonadotropin-Releasing-Faktoren.

Proteinasen ändern die LH-RF Aktivität. Pepsin mindert die Wirkung, Trypsin zerstört sie vollständig (Campbell, Feuer, Harris 1964)(Guillemin 1964). Auf Grund dieser Befunde wird vermutet, daß LH-RF und FSH-RF Polypeptide oder mindestens Moleküle mit aktiven Peptidverbindungen sein können (Fawcett, Reed, Charlton, Harris 1968). Schally, Kastin, Loche und Bowers (1967) dagegen vermuten, daß die Gonadotropin-Releasing-Faktoren Moleküle sind mit geringem Aminosäuren-und Kohlehydratgehalt.

3.3.8. Molekulargewicht.

Bei der Gel-Filtration auf Sephadex-G 25, ein Verfahren, das Substanzen nach ihrem Molekulargewicht auftrennt, sind LH-RF und FSH-RF niedermolekular. Es scheint, daß die Molekulargewichte in der Größenordnung von Vasopressin und Oxytocin liegen, d.h. etwa zwischen 1 200 und 2 500. Vermutlich ist LH-RF etwas größer als FSH-RF (Ramirez, Nallar, McCann 1964) (Schally, Saito, Arimura, Müller, Bowers, White 1966) (Fawcett, Reed, Charlton, Harris 1968). Ein Molekulargewicht von etwa 300 vermuten dagegen Schally, Kastin, Loche und Bowers (1967). Blobel (1969) nimmt ein Molekulargewicht von unter 1 000 an.

3.3.9. Wirkungsweise.

Die Aufgabe der Releasing-Faktoren ist es, die Sekretion der entsprechenden tropen Hormone des HVL zu stimulieren. Die Gonadotropin-Releasing-Faktoren werden von Nervenstrukturen in der Eminentia mediana je nach eingehenden Stimuli in das Hypothalamus-Hypophysen-Portalgefäßsystem sezerniert und gelangen so in den

HVL. Dort bewirken sie die Freisetzung von LH und FSH. Es besteht außerdem eine Reihe von experimentellen Hinweisen, daß die Gonadotropin-Releasing-Faktoren auch eine Synthese der gonadotropen Hormone induzieren. Corbin und Story (1966) konnten zeigen, daß bis zur 45.Minute nach Injektion von FSH-RF der FSH-Gehalt der Hypophyse kontinuierlich abfällt, danach langsam ansteigt und 4 Stunden nach Injektion wieder die Ausgangswerte erreicht. Bei in vitro Versuchen beobachteten Jutisz, Berault, Novella und Ribot (1967), daß Hypophysenkulturen während der Inkubationszeit mit LH-RF doppelt so viel LH sezernieren als zu Beginn der Versuche in den Hypophysen vorhanden war. Werden Hypophysenkulturen mit FSH-RF inkubiert, kommt es zu deutlicher Freisetzung von FSH in das Inkubationsmedium. Man erreicht eine signifikante Abnahme des FSH-Release durch Zugabe von Proteinsyntheseinhibitoren wie Puromycin und Actinomycin (Jutisz und De la Llosa 1967). Durch Isotopenversuche konnte eine Wirkung auf die Synthese der Gonadotropine im HVL nicht nachgewiesen werden (Samli und Geschwind 1967). Aus diesen experimentellen Beobachtungen kann man, wenn auch mit Vorbehalt, schließen, daß die Gonadotropin-Releasing-Faktoren neben der sicher nachgewiesenen Freisetzungsfähigkeit auch eine Synthese der Gonadotropine im HVL induzieren.

4. Regelung der Gonadenfunktion

Man unterscheidet heute wenigstens drei Regelkreise, die die Gonadenfunktion steuern (Blobel, Schlumberger 1967):

1.) Ovar $\xrightarrow{\text{Steroide}}$ Hypothalamus $\xrightarrow{\text{Releasing-Faktoren}}$

HVL $\xrightarrow{\text{Gonadotropine}}$ Ovar.

2.) Ovar $\xrightarrow{\text{Steroide}}$ HVL $\xrightarrow{\text{Gonadotropine}}$ Ovar.

3.) HVL $\xrightarrow{\text{Gonadotropine}}$ Hypothalamus $\xrightarrow{\text{Releasing-faktoren}}$ HVL.

4.1. Experimenteller Nachweis der einzelnen Regelkreise.

4.1.1. Oestrogensensitive Strukturen im Hypothalamus.
Implantation von Ovargewebe in die Gegend der paraventrikulären Kerne des Hypothalamus führt zu Uterusatrophie. Implantation in die Hypophyse hat keine Wirkung auf deren gonadotrope Aktivität (Flerkó und Szentágothai 1957). Die durch Kopulation induzierte Ovulation bei Kaninchen kann durch Oestrogeneinpflanzung in die Eminentia mediana verhindert werden. Implantation in die Adenohypophyse oder andere Areale des Hypothalamus bewirken nicht diesen Hemmeffekt (Davidson und Sawyer 1961). Lisk und Newlon (1963) erbrachten den morphologischen Nachweis, daß Oestrogen im Nucleus arcuatus percipiert wird und einen Hemmeffekt auf dieses Areal hat. Kanematsu und Sawyer (1963) schlossen aus ihren Untersuchungen, daß in der Eminentia mediana das nervöse Zentrum lokalisiert ist, von dem aus die gonadotrope Funktion des Hypophysenvorderlappens in Abhängigkeit vom peripheren Sexualhormonspiegel gesteuert wird. Wird Oestrogen in den HVL implantiert, dann sinkt sein LH-Gehalt. Implantiert man dagegen Oestrogen in die Eminentia mediana des Hypothalamus, dann sinkt der LH-Gehalt des HVL noch deutlicher. Kanematsu und Sawyer (1964) schreiben dem Oestrogen eine duale Wirkung zu. Im Hypothalamus oder übergeordneten Zentren hemmt es die Freisetzung des Luteinisierungs-Hormon-Releasing Faktors, in der Hypophyse stimuliert es die Ausschüttung des luteinisierenden Hormons.
Eleganter können oestrogensensitive Strukturen durch radioaktiv markiertes Oestrogen nachgewiesen werden. Michael (1962) wies mit dieser Technik autoradio-

graphisch solche Oestrogenrezeptoren in der Eminentia mediana nach. Bestätigt und erweitert wurde dies 1967 von Kato und Villee mit radioaktiv markiertem Oestradiol. Sie beobachteten eine deutliche Anreicherung im HVL und in der Eminentia mediana. Außerdem konnten sie zeigen, daß in der Hypophyse und im Hypothalamus nicht nur qualitativ sondern auch quantitativ genau determinierte Rezeptoren für Oestradiol vorhanden sind. Gleichzeitige Gabe von markiertem und unmarkiertem Oestradiol senkt in Relation zur Beigabe von unmarkiertem Oestrogen die Radioaktivität über dem HVL und dem Hypothalamus. Dies bedeutet, daß in der Eminentia mediana des Hypothalamus und im HVL spezifische Rezeptoren für Oestradiol sind, die quantitativ eine begrenzte Kapazität besitzen (Eisenfeld und Axelrod 1967).
Diese Experimente erbringen den Beweis, daß im Hypothalamus und in der Hypophyse oestrogensensible Rezeptoren bestehen, über die die gonadotrope Funktion des HVL geregelt und somit die Sexualfunktion gesteuert wird.

4.1.2. Wirkung der Sexualhormone.

4.1.2.1. Negativer Feedback.

Die Ausschüttung der Gonadotropine aus dem HVL wird durch langdauernde Oestrogengabe gehemmt (Mahnert 1928). Kastration steigert die gonadotrope Aktivität des HVL und führt zur Ausbildung von sogenannten Kastrationszellen im HVL. Diese erhöhte Gonadotropinfreisetzung und die morphologischen Veränderungen in der Hypophyse können durch Keimdrüsenhormone verhindert werden (Hohlweg und Dohrn 1932). Diese negative Feedback-Wirkung der Oestrogene auf die Ausschüttung von Gonadotropinen aus dem HVL wurde von vielen Autoren durch verschiedene Versuchsanordnungen nachgewiesen (Paschkis und Rackaff 1950, Paesi und van Rees 1960, Kincl, Ringold und Dorfman 1961, McCann und Ramirez 1964). Eine solche negative Rückkoppelung wurde auch für Oestron (Dorfman und Dorfman 1963, Greenwald 1965), für Progesteron (McCann,

Ramirez 1964) und für Testosteron (Mittler und Meites 1966) nachgewiesen. Diese Wirkung der Oestrogene kommt dadurch zustande, daß sie oestrogensensitive Rezeptoren im Hypothalamus sättigen (McCann 1964). Ein Beweis dafür ist, daß exogen zugeführte Releasing-Faktoren bei ovariectomierten, mit Oestrogen und Progesteron vorbehandelten Ratten einen Gonadotropin-Release aus der Hypophyse bewirken (Ramirez und McCann 1963). Wäre die Hypophyse durch Progesteron und Oestrogen blockiert, könnten exogene Releasing-Faktoren keine Gonadotropine freisetzen.

4.1.2.2. Positiver Feedback.

Eine einzige Oestrogeninjektion in infantile weibliche Ratten induziert Corpus luteum-Bildung (Hohlweg 1934). Dieses als "Hohlweg Effekt" in die Literatur eingegangene Phänomen wird durch Hypophysektomie verhindert. Deshalb vermuteten Hohlweg und Chamarro (1937), daß Oestrogen eine Gonadotropinsekretion aus der Hypophyse bewirkt. Westman und Jacobsohn (1938) bestätigten diesen Effekt und zeigten, daß er nur bei intaktem Hypophysen-Hypothalamus-System auszulösen ist. Sawyer, Everett und Markee (1949) und Flerkó (1957) fundierten diese Theorie. Pentobarbital, ein zentral wirksames Hypnotikum verhindert den Hohlweg Effekt (Presl 1961). Döcke und Dörner (1965) zeigten, daß Oestrogenimplantation in den HVL und den anterioren Hypothalamus eine Corpora lutea-Bildung auslösen kann. Sie glauben wohl, daß für diesen Effekt das Hypophysen-Hypothalamus-System intakt sein muß, vermuten aber, daß das Oestrogen vornehmlich an der Hypophyse wirkt und dort die Sensibilität für Gonadotropin-Releasing-Faktoren erhöht. Auch durch andere Versuchsanordnungen kann gezeigt werden, daß Oestrogen einen Gonadotropin-Release bewirkt. Einmalige Oestrogeninjektionen führen zur Ovulation und Cholesterinisation der Ovarien schwangerer Ratten (Everett 1947). Im selben Jahr beschrieb Bradbury

LH-Ausschüttung nach kurzdauernder Oestrogeninjektion bei unreifen Ratten. Wird Ratten mit 5 Tage-Cyclus am 2. Tag des Diöstrus Oestrogen gespritzt, dann wird die Ovulation um 24 Stunden beschleunigt (Everett 1948). Auch FSH-Ausschüttung kann nach einmaliger niedrig dosierter Oestrogeninjektion bei Nagetieren ausgelöst werden (Paschkis und Rakaff 1950).
Diese positive Feedback-Wirkung kurzzeitiger niedrig dosierter Oestrogeninjektionen auf die Gonadotropinsekretion wurde in den folgenden Jahren von vielen Autoren bestätigt (Greep und Jones 1950)(Sawyer 1959)(Everett 1961)(McCann und Ramirez 1964)(Swelheim 1965).
Die positive Rückkoppelung von Oestrogen kann auch durch Auslösung einer vorzeitigen Pubertät gezeigt werden (Ramirez und Sawyer 1965)(Hagino, Ramaley und Gorski 1967)(Smith und Davidson 1968).
Abschließend kann man über die Wirkungsrichtung der Oestrogene auf die Gonadotropinsekretion feststellen: Kurzdauernde Oestrogenbehandlung kann Gonadotropine freisetzen, langdauernde hemmt ihre Ausschüttung (Bradbury 1947)(Greep 1961)(Nallar, Antunes-Rodriguez und McCann 1966). Auch gilt als sicher, daß niedrige Oestrogenkonzentrationen einen positiven Feedback, hohe Konzentrationen dagegen einen negativen Feedback bewirken (McCann 1964)(Callantine, Humphrey und Nesset 1966).
Schließlich kann in Abhängigkeit vom Stadium des Sexualcyclus eine stimulierende und eine hemmende Beeinflussung der Gonadotropinsekretion durch Oestrogene beobachtet werden (Everett 1948).

4.1.3. Nachweis einer direkten Rückkoppelung zwischen Ovar und Hypophyse.

Oestrogenimplantation in die Hypophyse hemmt die Ausbildung der typischen morphologischen Veränderungen nach Kastration. Ein Beweis, daß auch in der Hypophyse oestrogensensitive Rezeptoren sind (Bogdonave 1963). Diese Beobachtungen wurden durch Ramirez, Abrams und

McCann (1964) bestätigt und von Kato und Villee (1967) mit radioaktivem Oestradiol gesichert.
Oestrogenimplantation in die Hypophyse bewirkt eine LH-Freisetzung (Kanematsu und Sawyer 1964). Hypophysenkulturen inkubiert mit Oestrogen sezernieren LH (Piacsek und Meites 1966).
Es könnte sein, daß definierte Oestrogenmengen zuerst auf die Hypophyse und dann auf den Hypothalamus einwirken. Das im Blut circulierende Oestrogen gelangt nämlich zuerst an die gonadotropen Zellen des HVL und beeinflußt da den Gonadotropin-Release. Nach Überschreiten der Blut-Hirnschranke erreichen sie oestrogensensitive Rezeptoren im Hypothalamus, die dann,in Abhängigkeit von dem percipierten Sexualhormonspiegel und von eingehenden Impulsen von anderen hypothalamischen und epithalamischen Arealen, die Funktion des HVL regulieren (Kanematsu und Sawyer 1964).

4.1.4. Nachweis eines sogenannten kleinen Rückkoppelungsmechanismus zwischen HVL und Hypothalamus.

Wird Stutenserumgonadotropin intakten oder ovariectomierten Ratten injiziert, dann sinkt der LH-Gehalt in der Hypophyse (Szontagh und Uhlaric 1964). Ob es sich dabei um einen negativen Feedback (Chowers und McCann 1965) von LH auf die Hypophyse oder um eine negative Rückkoppelung zum Hypothalamus handelt, ist nicht erwiesen. Die cyclusabhängigen LH-RF Gehalte des Hypothalamus - am tiefsten zur Zeit des Proöstrus, zu dem Zeitpunkt also, an dem im Serum ein LH-Gipfel besteht - könnten als indirekter Beweis einer Rückkoppelung zwischen Hypophyse und Hypothalamus gedeutet werden (Chowers und McCann 1965). LH-Implantation in die Eminentia mediana senkt den LH-Gehalt der Hypophyse intakter (Corbin und Cohen 1966) und ovariectomierter Ratten (Corbin 1966). Ein solcher "short feedback" zwischen Hypophyse und Hypothalamus wurde auch für

für FSH festgestellt (Corbin und Story 1967)(Fraschini, Motta und Martini 1968).

5. Die Sexualfunktion als Kybernetischer Regelkreis und ihre Beeinflussung von außen.

Auf die dargestellten Regelkreise baut sich die heutige Vorstellung der Steuerung der Gonadenfunktion auf. Ihre Regelung unterliegt wie die vieler anderer physiologischer Größen "den Gesetzen der Kybernetik"(Blobel 1969). Der aktuelle Sexualhormonspiegel ist die Größe des "milieu intérieur", die als Regelgröße laufend im Hypothalamus durch Oestrogenrezeptoren gemessen wird. Der Istwert wird dem Sexualzentrum gemeldet und wenn nötig via Hypophyse dem Sollwert angeglichen. Diese Regelung ist kein starres System, sondern sie wird durch innere und äußere Einflüsse laufend verändert. Zu den inneren Einflüssen zählt man afferente neurale Impulse (Donovan und Tracyk 1960). Zu den äußeren Einflüssen gehören schlechte Ernährung, die den Genitalcyclus hemmen (Piacsek und Meites 1967), Lärm, der zu Sterilität führen kann (Sackler, Weltmann, Bradshaw und Jurtshuk 1959) (Zondek und Tamari 1964). Unter diesen Stressituationen ändert sich das Endocrinium im Sinne des Adaptationssyndroms nach Seyle. Dauerlicht wirkt in verschiedener Weise auf die Sexualfunktion. Eine Stimulation der gonadotropen Funktion der Hypophyse beobachteten Hollwich und Tilgner 1963 beim Erpel. Dies bestätigten Piacsek und Meites 1967 und Negro-Vilar, Dickermann und Meites 1968 bei der Ratte. Eine Hemmung der gonadotropen Funktion nach Dauerlicht berichteten Lawton und Schwartz (1965) und Donovan (1967).
Diese Befunde veranschaulichen, daß die Regelung der Gonadenfunktion kein starrer physiologischer Vorgang ist, sondern sich plastisch inneren und äußeren Milieuänderungen anpaßt.

6. Ausgangspunkt für den experimentellen Teil der Arbeit.

6.1. Notwendigkeit der Standardisierung von Gonadotropin-Releasing-Faktoren.

Bisher konnte Gonadotropin-Releasing Aktivität der einzelnen Präparationen nur als minimal wirksame Dosis angegeben werden. Für die weitere Erforschung und vor allem für die Reindarstellung dieser Faktoren ist es notwendig, eine Substanz zu finden, auf die Gonadotropin-Releasing Aktivität bezogen werden kann. Dies soll das Ziel der Arbeit sein. Nur eine solche Substanz kann als Standard dienen, die wie die Releasing Faktoren Gonadotropine aus der Hypophyse freisetzt.

6.2. Welche Substanzen beeinflussen das Hypophysen-Hypothalamus System?

6.2.1. Übersicht über Substanzen, die die Ausschüttung von FSH und LH aus der Hypophyse hemmen.

6.2.1.1. Reserpin, das Hauptalkaloid der Rauwolfia Arten, hat bei Tier und Mensch zentral einen sedierenden Effekt. Es senkt im Hirnstamm und vor allem im Hypothalamus die Noradrenalin-, Dopamin- und 5-Hydroxy-Tryptamin-Speicher.

Weibliche Ratten mit normalem Cyclus zeigen nach einmaliger Injektion von Reserpin Zeichen einer Graviditität (Barraclough und Sawyer 1959). Reserpin verhindert die Ovulation bei infantilen Ratten nach Injektion von Stutenserumgonadotropin und HCG (Hopkins und Pinkus 1963). Wird Reserpin in die Eminentia mediana implantiert, dann sinkt der Prolactingehalt der Hypophyse und führt bei ovariectomierten mit Oestrogen vorbehandelten Kaninchen zur Mammastimulation (Kanematsu und Sawyer 1963). Reserpin hemmt den Postkastrationsanstieg von LH und führt zu Ovaratrophie in semiovariectomierten Ratten (Labsethwar 1967).

Diese Beobachtungen nach Reserpinapplikation bestätigten Coppola, Leonardi, Lippmann, Perrine und Ringler 1965. Reserpin scheint auf Grund seiner pharmakologischen Wirkung die LH-Releasing Aktivität im Hypothalamus zu hemmen, ebenso wie die Freisetzung des prolactininhibierenden Faktors. Dadurch kommt es zur Ausschüttung von LTH aus der Hypophyse und zur Blockade der LH-Freisetzung. Offensichtlich sind der hypothalamische Catecholaminspiegel und die Gonadotropinsekretion unmittelbar gekoppelt und ihre Sekretion direkt vom sympathischen Tonus im Hypothalamus abhängig (Lippmann, Leonardi, Ball und Coppola 1967). Auch andere pharmakologische Substanzen, die wie Reserpin den hypothalamischen Noradrenalinspiegel senken, hemmen Ovulation und bewirken eine Ausschüttung von Prolaktin aus der Hypophyse. Zu ihnen gehören o-Methyl-Dopa, o-Methyl-para-Tyrosine, Syrosingopine und Tetrabenzine. Der Monoaminooxydasehemmstoff Iproniazid blockiert den Reflex von Reserpin. Pharmaka, die peripher die Noradrenalinkonzentration senken, beeinflussen nicht die gonadotrope Funktion der Hypophyse (Coppola, Leonardi, Lippmann, Perrine und Ringler 1965)(Coppola, Leonardi und Lippmann 1966) (Lippmann, Leonardi, Ball und Coppola 1967).

6.2.1.2. Neuroplegika.

Chlorpromazin führt zu einer erhöhten Ausschüttung von Prolactin aus der Hypophyse (Polishuk und Kulczar 1956) und verhindert die Ovulation bei Ratten (Harrington, Eggert und Wilbur 1967). Die antigonadotrope Wirkung von Chlorpromazin und seiner Derivate kommt durch den sedierenden Effekt auf das Zentralnervensystem zustande.

6.2.1.3. Barbitursäurederivate

Die hypnotische Wirkung der Barbitursäurederivate auf das ZNS beeinflußt auch dämpfend die die Gonadotropin-Sekretion steuernden Areale des Hypothalamus. In verschiedenen Dosen und Applikationsarten hemmen sie bei Ratten die Ovulation (Everett und Sawyer 1950). Barbitursäure hindert die Ausbildung von Kastrationszellen bei Ratten (Hohlweg 1961) und verzögert die Pubertät, bzw. verhindert die durch Oestrogen induzierte Pubertas praecox (Hagino, Ramaley und Gorski 1966).

6.2.1.4. Morphin hat neben seiner analgetischen und atemdepressiven Wirkung eine ausgesprochen hypnotische Wirkung auf das ZNS. Morphin blockiert bei zeitgerechter Injektion die Ovulation (Barraclough und Sawyer 1955). Auch die Kastrationszellenbildung in der Hypophyse nach Gonadektomie kann durch Morphin verhindert werden (Dörner und Hohlweg 1959).

6.2.1.5. Das biogene Amin Serotonin, das vor allem die glatte Muskulatur erregt und vasokonstriktorisch wirkt, hat eine unklare Wirkungsrichtung in bezug auf die gonadotrope Aktivität der Hypophyse. Serotonin kann eine frühe Schwangerschaft bei Mäusen unterbrechen (Botros, Lindsay, Paulson und Robson 1961)(Lindsay, Paulson und Robson 1963). Auch vermag Serotonin die Pubertät zu verzögern, bei erwachsenen Ratten den Sexualcyclus zu blockieren und eine Gewichtsabnahme zu verursachen (Robson und Botros 1961). Serotonin scheint die durch Stutenserumgonadotropin bewirkte LH-Freisetzung aus der Hypophyse infantiler Ratten zu hemmen (O'Steen 1964). Andererseits zeigte Brown 1966, daß Serotonin in geringer Menge die durch Stutenserumgonadotropin induzierte Ovulation bei unreifen Mäusen potenziert, hohe Dosen dagegen die umgekehrte Wirkung haben (Brown 1967).

6.2.1.6. Anticholinergica

Der Eisprung bei Kaninchen nach Kopulation wird durch sofort anschließende Atropininjektion verhindert (Sawyer, Markee und Townsend 1949). Durch zeitlich richtige Atropininjektionen können Spontanovulationen bei Ratten verhindert werden (Everett, Sawyer und Markee 1949)(Markee, Everett und Sawyer 1952). Atropin hemmt die Bildung der Kastrationszellen bei gonadektomierten Ratten (Knappe und Dörner 1959) und den LH-Anstieg im Blut (Hohlweg 1961).

Banthin hemmt die durch Coitus induzierte Ovulation beim Kaninchen (Sawyer, Markee und Everett 1951).

Pathilon hemmt die Spontanovulation bei Ratten (Gitsch, Everett 1958).

6.2.1.7. Antiadrenergica

Dibenamine

Die Ovulation wird bei Kaninchen durch sofortige Injektion nach Coitus blockiert (Sawyer, Markee und Townsend 1949). Wird Dibenamin Ratten zu einer bestimmten Zeit im Stadium des Prooestrus gespritzt, dann wird die Spontanovulation unterbunden (Everett, Sawyer, Markee 1949). Diese Ergebnisse bestätigte Moore (1961), jedoch konnte er zeigen, daß chronische Dibenaminzufuhr die gonadotrope Funktion des HVL nicht hemmt.

S KF-501 (N-9-fluorenyl)-N-ethyl-ß-chloroethyl-amine-hydrochloride) hemmt die durch Kopulation induzierte Ovulation bei Kaninchen, wenn sofort nach dem Coitus injiziert wird, bei Ratten, wenn während einer kritischen Zeit des Prooestrus gespritzt wird (Sawyer, Markee und Everett 1950).

6.2.2. Substanzen, die das Hypothalamus-Hypophysen-System zur Gonadotropinsekretion stimulieren.

Der "Trigger-Mechanismus", der über die Gonadotropin-Releasing-Faktoren die Ausschüttung des luteinisierenden Hormons für die Ovulation aus der Hypophyse stimuliert, muß nervös sein. Dafür spricht, daß antiadrenerge und anticholinerge Stoffe die Ovulation bei spontan- und reflexovulierenden Species verhindern (Markee, Everett und Sawyer 1952), daß afferente Stimuli von der Vagina eine Ovulation auslösen (Greulich 1934) und daß bei der Ratte zum "kritischen Zeitpunkt" am Tag des Prooestrus (14 - 16 h) im präoptischen Areal und im lateralen anterioren Hypothalamus EEG-Aktivitätssteigerungen abgeleitet werden können (Sawyer 1957). Schließlich konnten ein Anstieg nach Kastration und cyclussynchrone Änderungen des Noradrenalinspiegels im vorderen Hypothalamus nachgewiesen werden (Stefano und Donoso 1967) (Donoso und Stefano 1967). Diese Forscher vermuten, daß adrenerge Substanzen irgendwie an dem "Trigger-Mechanismus" teilhaben.
Auf Grund dieser experimentellen Befunde haben viele Forscher in den letzten Jahren versucht, mit neuralen Mediatoren und anderen im Hypothalamus physiologisch vorhandenen Substanzen einen Gonadotropin-Release zu erreichen. Andere testen diese Stoffe auf ihre Gonadotropin-Freisetzungsfähigkeit aus, um die Spezifität der Gonadotropin-Releasing-Faktoren nachzuweisen.

Folgende Tabelle soll einen Überblick geben über aktive Substanzen, die einen Gonadotropin-Release bewirken können.

Tabelle 1 Substanzen, die einen Gonadotropin-Release aus der Hypophyse bewirken

Substanz	Dosis in µg	Versuchstier	Applikationsart	Wirkung	Autoren
Adrenalin	1/100	Kaninchen	intrahypophyseal	4 von 17 Ovulation	Markee, Sawyer Hollinstead 1948
Adrenalin	1/1000	Kaninchen	intrahypophyseal	5 von 10 Ovulation	Markee, Sawyer Hollinstead 1948
Adrenalin	50	Kaninchen	intraventrikulär	4 von 10 Ovulation	Sawyer 1952
Adrenalin	5	Ratten	i.v.	LH-Release	Ramirez, McCann 1963
Adrenalin	120	Kaninchen	intrahypophyseal	2 von 11 Ovulation	Campbell, Feuer Harris 1964
Adrenalin	40	Ratten	i.v.	LH-Release	Martini, Pecile Fochi 1961
Noradrenalin	50	Kaninchen	intraventrikulär	4 von 10 Ovulation	Sawyer 1952
Acetylcholin + Prostigmin	10 5	Ratten	intrahypophyseal	LH-Release	Taubenhaus, Soskin 1941
Acetylcholin + Prostigmin	50 40	Ratten	s.c.	2 von 10 Pseudopregnancy	Taubenhaus, Soskin 1941
Acetylcholin	5	Kaninchen	intrahypothalam	LH-Release	Endröczi, Hilliard 1965
Acetylcholin	10	Kaninchen	intrahypothalam	LH-Release	Endröczi, Hilliard 1965
Charbamylcholin	5	Kaninchen	intrahypothalam	LH-Release	Endröczi, Hilliard 1965
Histamin	250 - 500	Kaninchen	intraventrikulär	LH-Release	Sawyer 1955
Histamin	120	Kaninchen	intrahypophyseal	LH-Release	Campbell, Feuer, Harris 1964
Histamin	3000	Ratten	i.v.	LH-Release	McCann, Taleisnik, Friedmann 1960
Histamin	15	Kaninchen	intrahypothalam	LH-Release	Endröczi, Hilliard 1965
Serotonin	35	Ratten	i.v.	LH-Release	McCann, Taleisnik, Friedmann 1960
Serotonin	50	Ratten	i.v.	LH-Release	Guiliani, Martini, Pecile, Fochi 1961

Fortsetzung Tabelle 1

Substanz	Dosis in µg	Versuchstier	Applikationsart	Wirkung	Autoren
Lysin-Vasopressin	16 IU	Kaninchen	i.v.	Erhöhung der Gonadotropinausscheidung im Urin	Martini, Mira, Pecile, Saito 1959
Pitressin	16 IU	Kaninchen	i.v.		
Pitressin	70 mU	Ratten	i.v.	LH-Release	McCann, Taleisnik Friedmann 1960
Pitressin	300	Ratten	i.v.	LH-Release	Guiliani, Martini Pecile, Fochi 1961
Pitressin	200 mU	Ratten	i.v.	LH-Release	Ramirez, McCann 1963
Pitressin	1000mU	Ratten	i.v.	LH-Release	Ramirez, McCann 1963
Lysin-Vasopressin	5 mU	Kaninchen	intrahypothalam	LH-Release	Endröczi, Hilliard 1965
Pitocin	16 mU	Kaninchen	i.v.	Erhöhung der Gonadotropinausscheidung im Urin	Martini, Mira Pecile, Saito 1959
Syntocinon	16 mU	Kaninchen	i.v.		
Oxytocin	20 mU	Kaninchen	intrahypothalam	LH-Release	Endröczi, Hilliard 1965
FSH - Release					
Histamin	20	Ratten	i.c.	FSH-Release	Saito, Arimura
Vasopressin	500 mU	Ratten	i.c.	FSH-Release	Müller, Bowers und Schally 1967
Spermidine	10	Ratten	i.c.	FSH-Release	
Andere Substanzen					
Picrotoxin	1 500	Kaninchen	i.v.	2 von 14 Ovulation	Kasdon 1949
Picrotoxin	1 500-2 000	Kaninchen	i.v.	50 % Ovulation	Sawyer, Markee 1950

Fortsetzung Tabelle 1

Substanz	Dosis im µg	Versuchstier	Applikationsart	Wirkung	Autoren
Kupferacetat	10 000	Kaninchen	i.v.	Ovulation	Sawyer, Markee 1950
Kupferacetat	150	Kaninchen	intrahypophyseal	Ovulation	Sawyer, Markee 1950
Kupfergluconat	4 mg/kg	Kaninchen	i.v.	Ovulation	Suzuki, Bialy 1964 a
Kupfersulfat	4 mg/kg	Kaninchen	i.v.	Ovulation	Suzuki, Bialy 1964 b
Kupfersulfat	50 mg	Kaninchen	Implantation in Eminentia mediana	Ovulation	Hiroi, Sugita, Suzuki 1965
Kupfersulfat	10 mg	Kaninchen	i.v.	Ovulation	Kobayashi und Kobayashi 1965
Kupfersulfat	1/660 der i.v. Dosis	Kaninchen	intraventrikulär	Ovulation	Kobayashi und Kobayashi 1965
Kupfersulfat	1/30 - 1/100 d.i.v. Dosis	Kaninchen	intravertebral	Ovulation	Kobayashi und Kobayashi 1965
Kupfersulfat	3 mg/kg	Kaninchen	i.v.	Ovulation	Suzuki, Watanabe, Hoshü 1965

Außer den in der Tabelle 1 angeführten Substanzen soll noch kurz auf die Gonadotropin-Freisetzungsfähigkeit von Clomiphen hingewiesen werden. Bei der Ratte hemmen hohe Dosen Clomiphen die Gonadotropinausschüttung, niedrige Dosen stimulieren die LH-Freisetzung (Somnath, Greenblatt und Makesch 1964 a). Clomiphen verdrängt radioaktiv markiertes Oestrogen von den Rezeptoren in der Hypophyse und bewirkt so eine Gonadotropin-Freisetzung (Somnath, Virendra, Makesch und Greenblatt 1964 b). Schneider, Staemmler, Staehler-Pohl, Sachs (1968) sehen die Gonadotropinsekretionssteigerung nach Clomiphen als eine direkte Wirkung auf die hypothalamische Gonadotropinfreisetzungsfunktion an.
Ein ovulationsauslösender Gonadotropin-Release kann auch durch Mikroinjektion von Fe Cl_3 in das präoptische Areal des Hypothalamus erreicht werden.
Everett und Radford (1961) glauben, daß jede elektrische Stimulation des Hypothalamus mit Elektroden eine elektrochemische Freisetzung von Eisen bewirkt. Das Metall setzt einen "irritative focus", der Gonadotropinsekretion anregt (Everett 1964).
Andere Forscher hatten mit den in der Tabelle angeführten aktiven Substanzen in Bezug auf ihre Gonadotropinfreisetzungsfähigkeit keinen Erfolg. Inkubation von Hypophysenkulturen mit Adrenalin, Noradrenalin, Acetylcholin, Pilocarpin, Oxytocin und Vasopressin bewirkte keinen Gonadotropinrelease in das Medium (Suzuki, Hirano und Sugiyama 1961). Diese negativen Ergebnisse wurden von Johnson (1963) für Acetylcholin, Pitressin und Pitocin bestätigt. Für Adrenalin, Acetylcholin und Noradrenalin von Yamashita (1966). Für Syntocinon, Vasopressin und Epinephrin von Ramirez und McCann (1963). Daß Epinephrin, Norepinephrin und Acetylcholin keine FSH-Freisetzung bewirken, zeigten Saito, Arimura, Müller, Bowers und Schally (1967). Schließlich ist auch zu bedenken, daß die in der Tabelle angegebenen Dosierungen weit über

den physiologisch vorhandenen Konzentrationen liegen (Ramirez und McCann 1963). Die positiven Ergebnisse mit den Neurohormonen Oxytocin und Vasopressin beruhen auf einer direkten Wirkung dieser Substanzen auf den Ascorbinsäuregehalt der Ovarien infantiler Ratten, die für den Nachweis von LH-Aktivität benutzt werden (McCann und Taleisnik 1960).
Als Standardisierungssubstanz für Gonadotropin-Releasing Aktivität kommen daher die oben angeführten Substanzen kaum in Betracht. Per definitionem sollte eine solche Beziehungssubstanz so wie die Gonadotropinfreisetzer in der Hypophyse einen Gonadotropin-Release verursachen. Auf der Suche nach einem solchen Agens scheint Oestrogen noch am geeignetsten zu sein. Auf Grund der experimentellen Ergebnisse über den positiven Feedback der Oestrogene auf die Gonadotropinsekretion aus der Hypophyse scheint sich ein Oestrogenpräparat als Standardisierungssubstanz für Gonadotropin-Releasing-Faktoren anzubieten.

7. Fragestellung der Arbeit.

Es sollte geprüft werden,

1.) ob Oestrogen Gonadotropine aus der Hypophyse freisetzt,
2.) wenn ja, ob eine Dosiswirkungsbeziehung zwischen dem injizierten Oestrogen und der freigesetzten FSH- bzw. LH-Menge besteht,
3.) wie sich nach Oestrogeninjektion in Abhängigkeit von der Zeit der FSH- bzw. LH-Spiegel im Plasma ändert.

7.1. Material und Methodik.

7.1.1. Als Oestrogenpräparat wurde Oestronsulfat [1] in einer stabilen Präparation bestehend aus 90 % Oestronsulfat

---

(1) Oestronsulfat wurde freundlicherweise von der Firma Schering AG, Berlin, zur Verfügung gestellt.

und 10 % Stabilisator verwendet. Oestronsulfat ist eine der Ausscheidungsformen endogener Oestrogene, die im Harn trächtiger Stuten nachgewiesen wurden (Ammon und Dirscherl 1960). Daß es auch im Menschen vorkommt, gilt als sicher. Oestron hat eine etwa zehnmal schwächere Wirkung als ß-Oestradiol im Vaginalverhornungstest bei Ratten (Diczfalusy und Lauritzen 1961). Oestronsulfat hat im biologischen Test etwa 1/7 der Wirkung von Oestron (Fieser und Fieser 1961). Oestronsulfat besitzt demnach nur eine 1 - 2 %ige Wirksamkeit von Oestradiol. In wieweit Oestronsulfat nach Injektion von Oestron hydrolysiert und danach zu 17 α und 17 ß Oestradiol reduziert wird, muß dahingestellt bleiben.

7.1.2. Als Standardsubstanzen dienten: NIH-FSH-S_2
NIH-LH-S_5 (2)

7.1.3. Versuchstiere.
Als Versuchstiere dienten Wistar-Ratten der Versuchstieranstalt Ivanovas, Kissleg im Allgäu. Sie wurden unter standardisierten Bedingungen gehalten und mit Altromin K-15 der Firma Altrogge, Lage gefüttert. Wasser stand ihnen uneingeschränkt zur Verfügung.

7.2. Methodik.

7.2.1. Der Nachweis der Gonadotropin-Releasing-Aktivität erfolgte nach einer Modifikation der Methode von Ramirez und McCann (1963).
Tiere: 140 - 150 g schwere, weibliche Wistar-Ratten.

Materialien:

1.) Progesteron, 25 mg pro Ampulle (chemisch-pharmazeutische Werke Eifelfangos, Bad Neuenahr).

---

(2) NIH-FSH-S_2 und NIH-LH-S_5 wurde vom National Institute of Health, Endocrinology Study Section freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

2.) Oestradiolbenzoat (P rogynon-B oleosum der Firma Schering AG, Berlin). Eine Ampulle zu 1 ml enthält 5 mg Oestradiolbenzoat. Durch Verdünnung mit Oleum olivarum sterile wurde eine Lösung hergestellt, die pro ml 50 µg Oestradiolbenzoat enthält.

3.) Heparin (Liquemin der Firma La Roche AG, Grenzach/Baden).

4.) Physiologische NaCl 0,9 % (Biotest Seruminstitut GmbH, Frankfurt/Main).

5.) Oleum olivarum sterile.

Arbeitsgang:

1.) Cycluskontrolle durch Scheidenabstrich, Tiere ohne Cyclus wurden aus dem Versuch ausgeschlossen.

2.) Bilaterale Ovariektomie unter leichter Aethernarkose.

3.) Nach 4 Wochen (zu diesem Zeitpunkt waren die Tiere etwa durchschnittlich 200 g schwer) Blockade der Gonadotropin-Releasing Aktivität des Hypothalamus der chronisch ovariektomierten Ratten mit 25 mg Progesteron und 50 µg Oestradiolbenzoat durch getrennte subkutane Injektionen in die Schenkelbeugen.

4.) 3 Tage nach Blockade wurde eine definierte Oestronsulfatmenge aufgelöst in 0,5 ml phys.NaCl zusammen mit 200 E Heparin/100 g Tiergewicht (gelöst in 0,5 ml phys. NaCl) in die Schwanzvene unter leichter Äthernarkose gespritzt.

5.) 15, 30, 45, 60, 90, 120 Minuten (je nach Versuch) nach Injektion wurden die Tiere unter leichter Äthernarkose durch Punktion der Vena jugularis entblutet, und die Hypophysen aus der Sella turcica herausoperiert.

6.) Das Plasma einer Versuchsgruppe wurde nach Zentrifugation bei minus 20 Grad C. bis zur FSH- und LH-Aktivitätsbestimmung eingefroren. Die Hypophysen

wurden ebenfalls bei minus 20 Grad C. gruppenweise aufbewahrt.

Zehn ovariektomierte mit Progesteron und Oestradiolbenzoat blockierte Ratten bildeten eine Versuchsgruppe. 8 Tiere davon bekamen die gleiche Menge Oestronsulfat und 200 E Heparin/100 g Tiergewicht gespritzt. Die restlichen zwei Tiere dienten als Kontrolle, ihnen wurden nur 200 E Heparin/100 g Tiergewicht in 1 ml phys. NaCl gelöst gespritzt. Die Plasmaausbeute pro Tier betrug durchschnittlich 3 ml. Das Plasma von 5 Tieren wurde für die FSH-Bestimmung verwendet, das der restlichen drei für den LH-Test. Die Kontrollplasmen wurden sowohl bei den FSH- wie bei den LH-Testen mitgeprüft.

7.2.2. FSH-Test nach Steelman und Pohley (1953).

Das Prinzip dieses Testes besteht darin, daß infantile weibliche Ratten durch relativ hohe Dosen HCG (Human Chorion Gonadotropin) für die Wirkung von FSH sensibilisiert werden. Bei diesen mit HCG behandelten Ratten besteht innerhalb gewisser Grenzen zwischen der verabreichten FSH-Dosis und den Ovargewichten eine lineare Beziehung.

Tiere: 21 - 22 Tage alte, rund 40 g schwere infantile weibliche Ratten.

Materialien:

1.) HCG, Primogonyl (Schering AG, Berlin)
2.) Phys. NaCl
3.) Dichlormethan, Merck AG, Reag. Nr. 6049
4.) FSH-Standardlösungen. 50 µg bzw. 100 µg FSH-Standard werden in 1,5 ml phys. NaCl gelöst.

Arbeitsgang:

Man bildet für jede auf FSH-Aktivität zu testende Lösung bzw. für jedes auszutestende Plasma eine Gruppe von 5 Tieren.

Die Lösungen sind: 50 µg FSH-Standard, 100 µg FSH-Standard (jeweils aufgelöst in 1,5 ml phys. NaCl),

1,5 ml phys. NaCl, 3 ml Kontrollplasma, 3 ml der jeweils zu testenden Plasmen und 1,5 ml der aufgelösten (in NaCl) Hypophysen. Jedem Tier der entsprechenden Gruppe wird jeweils eine Lösungsmenge in 3 Raten zusammen mit 13,$\overline{3}$... IE HCG pro Rate (aufgelöst in 0,5 ml phys. NaCl) im Abstand von 24 Stunden subkutan injiziert.
24 Stunden nach der letzten Injektion werden die Tiere mit Dichlormethan getötet. Man wiegt jedes Tier und nimmt die Ovarien heraus. Diese befreit man von Fett und Bindegewebe und wiegt sie ebenfalls. Die Ovargewichte in mg werden dann auf 100 g Tiergewicht umgerechnet. Die Ovargewichtsänderung gegenüber der Kontrolle ist ein Maß für die FSH-Aktivität in den Test-Plasmen, bzw. Lösungen.

7.2.3. LH-Test, abgeändert nach Parlow (1958).
Das Prinzip dieses Testes besteht darin, daß die Ascorbinsäureabnahme in den Ovarien infantiler mit Stutenserumgonadotropin und Choriongonadotropin vorbehandelter Ratten ein Gradmesser für die LH-Aktivität einer Testsubstanz ist.

Tiere: Infantile weibliche Wistar-Ratten, 25 - 27 Tage alt und rund 45 g schwer.

Materialien:

1.) Anteron (Schering AG, Berlin)
2.) Primogonyl (Schering AG, Berlin)
3.) phys. NaCl
4.) Wathman Filterpapier Nr.1 (vitaminfrei)
5.) Dichlormethan (Merck AG, Reagenz Nr.6049)
6.) 2 %ige Trichloressigsäure. 3 M Trichloressigsäure 40 %ig (Merck AG, Nr. 811) wird mit Aqua dest. so verdünnt, daß eine 2 %ige Lösung entsteht.
7.) Thioharnstoff (Merck AG, Reagenz Nr.7979).

10 g Thioharnstoff werden in einer 50 %igen Alkohollösung so gelöst, daß eine 10 %ige Thioharnstofflösung entsteht.

8.) Dichlorphenolindophenol-Natrium (Merck AG, Reagenz Nr.3028). 0,02 g werden in 100 ml Aqua dest. aufgelöst. Dies ergibt eine 0,02 %ige Lösung.

9.) 2,4 Dinitrophenylhydrazin (Merck AG, Reagenz Nr. 3081). 3 g werden so in 44 %iger Schwefelsäure aufgelöst, daß eine 2 %ige Dinitrophenylhydrazinlösung entsteht.

10.) Essigsäure-iso-amylester rein (Merck, Reagenz Nr.1231).

11.) Di-Phosphorpentoxyd (Merck AG, Reagenz Nr. 570). 2,2 g Phosphorpentoxyd gelöst in 97 ml Aqua dest. ergibt eine 2,5 %ige phosphorige Säure.

12.) 44 %ige und 85 %ige Schwefelsäure werden aus 95 - 97 %iger Schwefelsäure (Merck AG, Reagenz Nr.731) durch Verdünnung mit Aqua dest. hergestellt.

Arbeitsgang:

1.) Jeder Ratte wird 50 IE Anteron, aufgelöst in 1 ml phys. NaCl subkutan gespritzt.

2.) 56 - 63 Stunden später wird jedem Tier 25 IE Primogonyl, aufgelöst in 1 ml phys. NaCl, subkutan gespritzt.

3.) Am 9. Tag nach der 1. Injektion bildet man für jede auf LH-Aktivität zu testende Lösung und für jedes auszutestende Plasma eine Gruppe mit je 4 Tieren. (Zu diesem Zeitpunkt sind die Tiere durchschnittlich 70 g schwer.)
Die Lösungen sind:
5 µg LH-Standard, 10 µg LH-Standard (jeweils gelöst in 1 ml phys. NaCl), 1 ml phys. NaCl, 1 ml Kontrollplasma, 1 ml der jeweils auszutestenden Plasmen und 1 ml der in phys. NaCl aufgelösten

Hypophysen. Jedem Tier der entsprechenden Gruppe wird jeweils eine Lösungsmenge in die Schwanzvene gespritzt.

4.) 4 Stunden nach i.v. Injektion werden die Tiere mit Dichlormethan getötet und gewogen.

5.) Die Ovarien werden herauspräpariert, und nach Befreiung von Fett und Bindegewebe werden linke und rechte Ovarien getrennt gewogen.

Aufarbeitung der Ovarien und Bestimmung ihres Ascorbinsäuregehaltes.

Prinzip der Ascorbinsäurebestimmung: Ascorbinsäure wird mit Dichlorphenolindophenol zu Dehydroascorbinsäure oxydiert, das sich durch Dinitrophenylhydrazin zu Osazon umsetzt. Osazon löst sich in 85 %iger Schwefelsäure. Die entstehende Rotfärbung wird dann photometrisch (Zeiss Spektralphotometer) bestimmt. Die der gemessenen Extinktion entsprechende Ascorbinsäuremenge wird aus einer Eichkurve abgelesen.

Arbeitsgang:

1.) Die rechten bzw. die linken Ovarien jeder Versuchsgruppe (je 4 Ovarien) werden in 10 ml phosphoriger Säure homogenisiert. (Diese muß kurz vor Beginn des Versuches frisch und kalt angesetzt werden).

2.) Das Homogenat wird durch Wathman Filterpapier Nr.1 filtriert.

3.) In einen Scheidetrichter pipettiert man 12 ml 2 %ige Trichloressigsäure und 5 ml des Filtrates aus 2.)

4.) Nach Durchmischen wird diese Lösung mit 3 ml 0,02 %iger Dichlorindophenollösung versetzt.

5.) Durchmischen und Überschichten mit 10 ml Amylacetat.

6.) Nach 15 Min. wird durch Schütteln der überschüssige Farbstoff extrahiert und das Amylacetat abgetrennt.

7.) 4 ml der wässrigen Lösung werden abpipettiert und mit 1 Tropfen Thioharnstofflösung und 1 ml Dinitrophenylhydrazinlösung versetzt.

8.) Diese Lösung wird für 75 Min. in ein Wasserbad von 50 Grad Celsius gestellt.

9.) Abkühlung im Eisbad und tropfenweiser Zusatz von 5 ml 85 %iger Schwefelsäure.

10.) Nach 30 Min. mißt man photometrisch die Extinktion gegen einen Blindwert bei 520 my und 10 mm Schichtdicke. Der Blindwert wird kurz vor dem Photometrieren aus 4 ml Aqua dest., einem Tropfen Thioharnstoff, 5 ml 85 %iger Schwefelsäure und 1 ml Dinitrophenylhydrazin angesetzt.

7.2.4. Aufarbeitung der Hypophysen, modifiziert nach Parlow (1964).

Material: Aceton

Arbeitsgang:

1.) Die nach Versuchsgruppen bei minus 20 Grad C. eingeforenen Hypophysen werden nach dem Auftauen mit 100 ml Aceton pro Gruppe versetzt und 24 Stunden bei + 4 Grad C. aufbewahrt.

2.) Überstehendes Aceton wird verworfen und Arbeitsgang 1.) wiederholt.

3.) Trocknung der Hypophysen bei Raumtemperatur (etwa 20 Grad C.).

4.) Zermörserung der Hypophysen zu einem feinen Pulver, das gruppenweise luftdicht verschlossen aufbewahrt wird.

1 mg Hypophysentrockenpulver entspricht 1/2 Hypophyse in situ.

Für den FSH-Test wurde pro Tier 1,5 mg Trockenpulver, das einer 3/4 Hypophyse entspricht, in 1,5 ml phys. NaCl gelöst, für den LH-Test 0,5 mg Trockenpulver (= 1/4 Hypophyse) in 1 ml phys. NaCl.

7.2.5. Rechnerische Auswertung der Ergebnisse (nach Geigy Tabelle 1962).

Es wurden berechnet:

1.) Standardabweichung der Mittelwerte

$$S_x = \sqrt{\frac{\leqslant (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad \text{wobei}$$

$\leqslant (x_i - \bar{x})$ = Summe der Differenzen der Einzelwerte vom Mittelwert

2.) Mittlerer Fehler des Mittelwertes

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{s^2}{n}}$$

3.) Beim Vergleich zweier Stichproben wurde der t-Test nach Student angewendet.

$$\text{Prüfquotient } t = \frac{d}{s_d}$$

$$\text{wobei } s_d = \sqrt{\frac{s_1^2}{N_1} + \frac{s_2^2}{N_2}}$$

$$\text{Freiheitsgrade } d_f = N_1 + N_2 - 2$$

Der p-Wert für den errechneten Prüfquotienten und den Freiheitsgrad wurde aus einer Tabelle (Geigy S. 32) abgelesen.

4.) Regressionsfunktion (siehe Geigy S. 170 ff)

$$\text{nach } y = \bar{y} + b_{yx} (x - \bar{x})$$

$$\text{wobei } b_{yx} = \frac{s_{xy}}{s_x^2}$$ den Regressionskoeffizienten ergibt.

8. Versuche und Ergebnisse

8.1. Versuchsgruppe 1

FSH-Aktivität im Plasma und in den Hypophysen ovariectomierter Ratten, deren Gonadotropin-Releasing Faktoren im Hypothalamus durch Progesteron und Oestrogen blockiert waren.

Abbildung 1 und Tabelle 2 zeigen die gefundenen FSH-Konzentrationen 30 Minuten nach intravenöser Injektion verschiedener Mengen Oestronsulfat im Plasma. Aus der Tabelle geht hervor, daß 0,05 und 0,5 µg Oestronsulfat pro 100 g Tiergewicht den FSH-Gehalt im Plasma nicht ändern und daß der FSH-Anstieg im Plasma bei den injizierten Oestronsulfatmengen von 6,25 bis 18,75 µg uncharakteristisch ist. 25 bis 50 µg Oestronsulfat pro 100 g Tiergewicht bewirken einen steilen dosisabhängigen FSH-Anstieg im Plasma. Höhere Oestronsulfatinjektionen konnten den FSH-Spiegel im Plasma nicht mehr steigern. In dem dosisabhängigen Wirkungsbereich konnten mit dem t-Test nach Student ein signifikanter Wirkungsunterschied von Oestronsulfat statistisch gesichert werden. Für diesen Bereich wurde der Regressionskoeffizient b_{yx} berechnet. Die daraus errechnete Regressionsfunktion ist in Abbildung 2 aufgezeichnet.

Neben der FSH-Aktivität im Plasma wurde auch der FSH-Gehalt in den Hypophysen dieser Tiere bestimmt. Die Ergebnisse sind aus der Abbildung 3 und der Tabelle 3 ersichtlich. Aus ihnen geht hervor, daß ~~es~~ sich in den Hypophysen der FSH-Gehalt entgegengesetzt verhält wie im Plasma. In dem Bereich, in dem im Plasma ein signifikanter Wirkungsunterschied von Oestronsulfat gezeigt werden konnte, wurde der p-Wert berechnet, der jedoch mit $p > 0{,}05$ gerade eben nicht mehr signifikant war.

8.2. Versuchsgruppe 2

LH-Aktivität im Plasma und in den Hypophysen ovariectomierter Ratten, deren Gonadotropin-Releasing Faktoren im Hypothalamus mit Progesteron und Oestrogen blockiert waren.

Die Tiere bekamen drei Tage nach der Blockade verschiedene Mengen Oestronsulfat intravenös injiziert. 30 Minuten später wurden sie entblutet und die Hypophysen entfernt. Der LH-Gehalt im Plasma und in den Hypophysen wurde mit dem Ovarascorbinsäureverarmungstest, abgeändert nach Parlow (1958), bestimmt. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 4 und 5 aufgeführt. Oestronsulfatdosen bis zu 12,5 µg pro 100 g Tiergewicht konnten kein LH aus der Hypophyse freisetzen. Im Bereich zwischen 25 und 75 µg beobachtet man eine geringe, aber nicht dosisabhängige LH-Aktivität im Plasma. Der LH-Gehalt der Hypophyse dieser Gruppen war nur bei den Tieren vermindert, die 37,5 µg Oestronsulfat injiziert bekommen hatten. Diese Tiere zeigten auch den höchsten LH-Gehalt im Plasma.

Tabelle 2

FSH-Aktivität (mg Ovargewicht/100 g Tiergewicht) im Plasma ovariektomierter, mit Oestrogen und Progesteron blockierter Ratten 30 Minuten nach Injektion verschiedener Mengen Oestronsulfat.

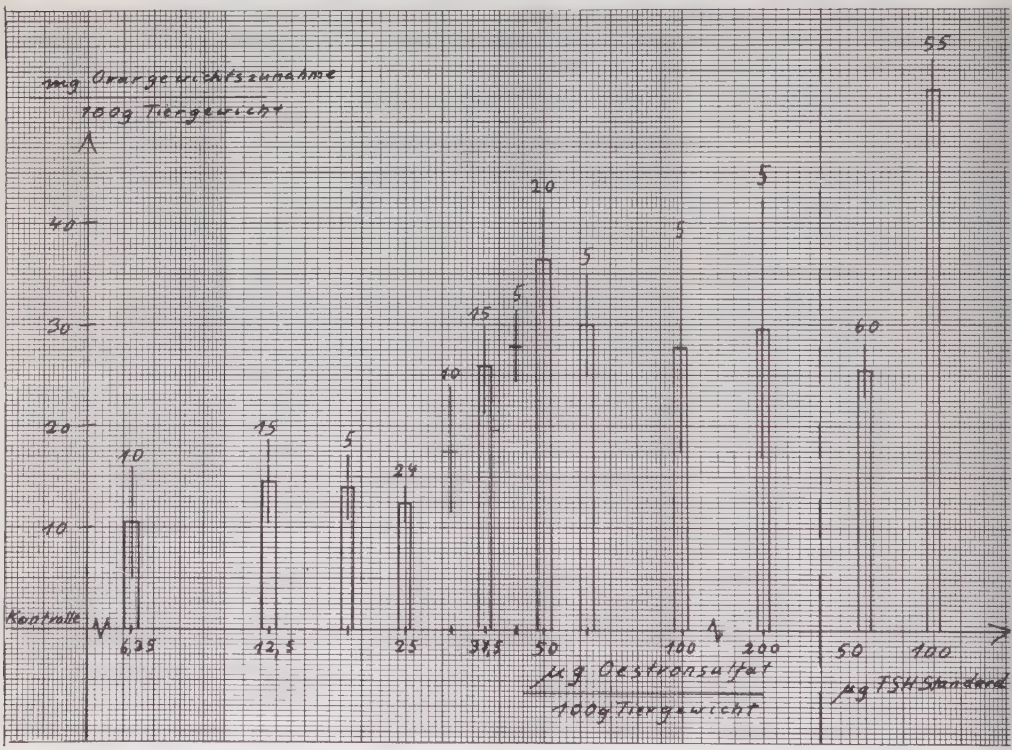
Behandlung der Spenderratten: µg Oestr.Sulf. / 100 g TG + 200 E Hep / 100 g TG	Gruppe	Behandlung der Testratten 40 E HCG und: FSH-St.	Plasma in ml	phys. NaCl in ml	Tierzahl	mg OG / 100g TG ± $s_{\bar{x}}$
	1	50 µg			60	144,3 ± 2,7
	2	100 µg			55	172,1 ± 3,3
	3			3	19	116,2 ± 2,5
0,5 ml phys.NaCl + 200 E	4		3		48	120,1 ± 2,1
0,05 + 200 E	5		3		5	119 ± 4,5
0,5 + 200 E	6		3		4	119,7 ± 6,3
6,25 + 200 E	7		3		10	127,4 ± 6,6
12,5 + 200 E	8		3		15	135,4 ± 4,5
18,75 + 200 E	9		3		5	137,4 ± 2,7
25 + 200 E	10		3		24	133 ± 2,2
31,25 + 200 E	11		3		10	142,5 ± 7,5
37,5 + 200 E	12		3		15	144,3 ± 4,2
43,75 + 200 E	13		3		5	149,5 ± 2,9
50 + 200 E	14		3		20	153,2 ± 4,6
62,5 + 200 E	15		3		5	143 ± 7,1
100 + 200 E	16		3		5	152,2 ±10,1
200 + 200 E	17		3		5	154,6 ±12,4

Abkürzungen: TG = Tiergewicht, OG = Ovargewicht, Hep = Heparin
St = Standard, $s_{\bar{x}}$ = mittler Fehler des Mittelwertes

Zwischen Gruppe 10 und 14 wurde der t-Test nach Student durchgeführt. Der errechnete t-Wert = 4,0077 ergab bei d_f = 42 Freigraden $2\ p < 0{,}001$, d.h. daß zwischen den beiden Gruppen ein Unterschied von 99 % statistisch gesichert ist.

Abbildung 1

FSH-Aktivität (mg Ovargewichtszunahme+/100 g Tiergewicht) im Plasma ovariektomierter, mit Oestrogen und Progesteron blockierter Ratten, 30 Minuten nach i.v. Injektion steigender Mengen Oestronsulfat. Darstellung im einfach logarithmischen System.

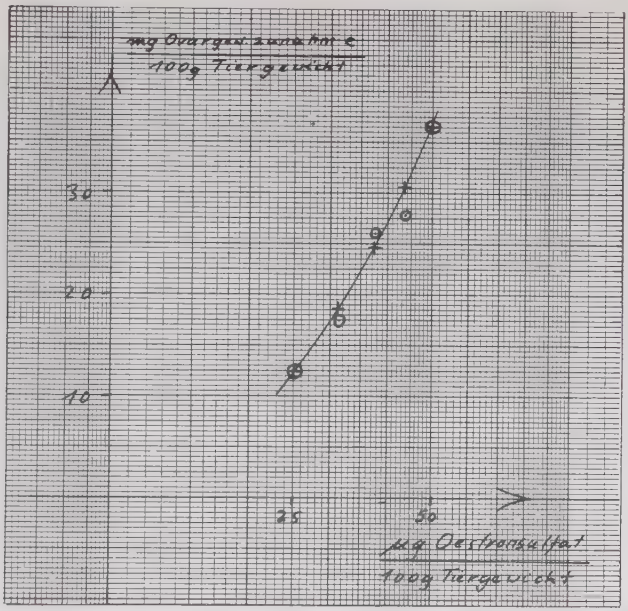


Dünne senkrechte Balken = mittlerer Fehler der Mittelwerte
Zahlen über den Säulen = Anzahl der Testtiere

+ Um den Schwankungen der Kontrollgruppen Rechnung zu tragen, wurde in den Abbildungen 1 - 4 die Ovargewichtszunahme gegenüber den Kontrollen als Parameter der FSH-Aktivität genommen. In den Tafeln 1 - 9 sind die Absolutwerte eingetragen, die als Grundlage für die rechnerische Auswertung dienten.

Abbildung 2

Regressionsfunktion zwischen 25 und 50 µg Oestronsulfat pro 100 g Tiergewicht.



Mittelwerte (FSH-Test) der Ovargewichtszunahme pro 100 g Tiergewicht bezogen auf die entsprechende Kontrollgruppe.

Mittelwerte errechnet nach $y = \bar{y} + b_{yx}(x - \bar{x})$

Regressionskoeffizient $b_{yx} = 0{,}9645$

Das ergibt für x folgende y-Werte:

x	25	31,25	37,5	43,75	50
y	12.4	18,4	24,5	30,5	36.5
FSH-Test	12,4	17,7	25,9	27.7	36,4

Tabelle 3

FSH-Aktivität (mg Ovargewicht/100 g Tiergewicht) in den Hypophysen ovariektomierter, mit Oestrogen und Progesteron blockierter Ratten 30 Minuten nach i.v. Injektion verschiedener Mengen Oestronsulfat.

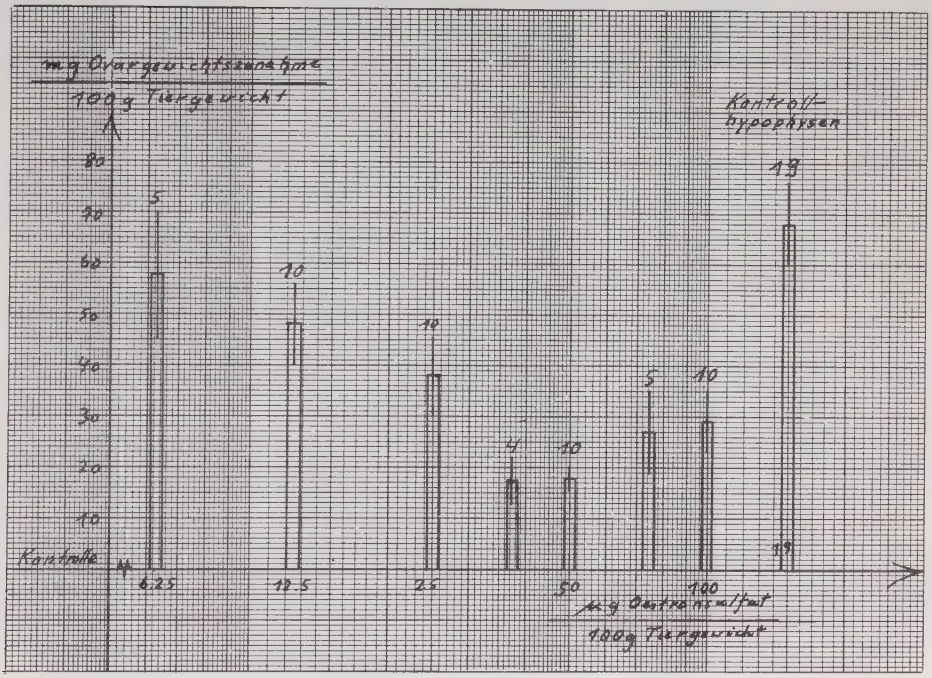
Behandlung der Spenderratten	Gruppe	Behandlung der FSH-Test-Ratten /40 E HCG und				$\frac{\text{mg OG}}{100\text{ g TG}} \pm s_{\bar{x}}$
$\frac{\mu g \text{ Oestr.Sulf.}}{100\text{ g TG}}$ + $\frac{200\text{ E Hep}}{100\text{ g TG}}$		FSH-St.	$\frac{\text{mg TrGH}}{\text{Tier}}$	phys. NaCl	Tierzahl	
	1	50 µg			60	144,3 ± 2,7
	2	100 µg			55	172,1 ± 3,3
	3			3 ml	19	116,2 ± 2,5
0,5 ml NaCl + 200 E Hep	4		1,5		19	181,8 ± 8,9
6,25 + 200 E	5		1,5		5	180 ± 16
12,5 + 200 E	6		1,5		10	165,2 ± 8,1
25 + 200 E	7		1,5		10	150,6 ± 8,1
37,5 + 200 E	8		1,5		4	135,7 ± 11,9
50 + 200 E	9		1,5		10	131,75 ± 4,3
75 + 200 E	10		1,5		5	134,4 ± 8,7
100 + 200 E	11		1,5		10	147,7 ± 7,7

Abkürzungen: TG = Tiergewicht, Hep = Heparin, OG = Ovargewicht, St = Standard, TrGH = Hypophysentrockengewicht
$s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes

Bei den Gruppen 7 und 9, bei denen im Plasma ein hochsignifikanter Wirkungsunterschied von Oestronsulfat errechnet werden konnte, wurde der t-Test nach Student durchgeführt. Der errechnete Prüfungsquotient von $t = 2{,}07$ und $d_f = 18$ Freiheitsgraden ergibt einen Wert der zwischen $2p < 0{,}05$ und $> 0{,}025$ liegt, d.h. der Unterschied zwischen den Mittelwerten dieser beiden Gruppen ist eben nicht mehr signifikant.

Abbildung 3

FSH-Gehalt (mg Ovargewicht/100 g Tiergewicht) in den Hypophysen ovariektomierter, mit Oestrogen und Progesteron blockierter Ratten, 30 Minuten nach i.v. Injektion steigender Mengen Oestronsulfat. Darstellung im einfach logarithmischen System.



Dünne, senkrechte Balken = $s_{\bar{x}}$

Zahlen über den Säulen = Anzahl der Testtiere

Tabelle 4

LH-Aktivität im Plasma ovariektomierter, mit Progesteron und Oestrogen blockierter Ratten 30 Minuten nach i.v. Injektion verschiedener Mengen Oestronsulfat (LH-Aktivität wurde bestimmt nach dem Ovarascorbinsäureverarmungstest, abgeändert nach Parlow 1958).

Behandlung der Spenderratten	Gruppe	Behandlung der LH-Test-Ratten			µg Ascorbinsäure / 100 mg OG		
µg Oestr.Sulf. / 100 g TG + 200 E Hep / 100 g TG		Plasma in ml	LH-St. in µg	Tierzahl	Kontrolle ± $s_{\bar{x}}$	Experiment ± $s_{\bar{x}}$	% OAV ± $s_{\bar{x}}$
	1		5	24	115,7 ± 6,2	91,5 ± 3,9	19,6 ± 4,4
	2		10	24	115,7 ± 6,2	62,9 ± 2,9	45,4 ± 2,9
0,5 ml phys. NaCl + 200 E Hep	3	1		24		115,7 ± 6,2	
0,05 + 200 E	4	1		4	99	97,25	1
0,5 + 200 E	5	1		4	99	138	0*
5,0 + 200 E	6	1		4	99	114	0
12,5 + 200 E	7	1		4	107	111	0
25 + 200 E	8	1		4	113	104	8
37,5 + 200 E	9	1		8	121,6 ± 8,6	103,3 ± 7,2	14,5 ± 0,5
50 + 200 E	10	1		12	116,6 ± 11	107,6 ± 14,8	8,1 ± 4,3
75 + 200 E	11	1		8	125,5 ± 12,5	119,2 ± 17,7	5 ± 5
100 + 200 E	12	1		4	107	115	0
200 + 200 E	13	1		4	107	135,25	0

Abkürzungen: TG = Tiergewicht, OG = Ovargewicht, Hep = Heparin
St = Standard, $s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes
% OAV = Ovarascorbinsäureverarmung gegenüber Kontrolle

*Die Ascorbinsäurezunahme bei einigen Versuchsgruppen gegenüber den Kontrollen ist nicht so relevant, da die Ausgangswerte von Gruppe zu Gruppe schwanken, so daß sie die positive Aussage der Ergebnisse verfälschen.

Tabelle 5

LH-Aktivität in den Hypophysen ovariektomierter, mit Progesteron und Oestrogen vorbehandelter Ratten, 30 Minuten nach intravenöser Injektion verschiedener Mengen Oestronsulfat. LH wurde bestimmt nach dem Ovarascorbinsäureverarmungstest nach Parlow(1958).

Behandlung der Spenderratten	Gruppe	Behandlung der LH-Test-Ratten				µg Ascorbinsäure / 100 mg Ovargewicht		
µg Oestr.sulf. / 100 g TG + 200 E Hep / 100 g TG		mg TrGH / Tier	LH-St. in µg	NaCl in ml	Zahl der Tiere	Kontrolle ± $s_{\bar{x}}$	Experiment ± $s_{\bar{x}}$	% OAV ± $s_{\bar{x}}$
	1		5		8	141,4 ± 2,9	100 ± 9,9	29,25±8,5
	2		10		8	141,4 ± 2,9	60 ± 9,7	57,5 ±7,5
	3			1	8		141,4±2,9	
0,5ml phys.NaCl + 200 E Hep	4	0,5			8	141,4 ± 2,9	54,3	62
12,5 + 200 E	5	0,5			4	138,5	54,6	61
25 + 200 E	6	0,5			4	144,25	46,25	68
37,5 + 200 E	7	0,5			4	138,5	72	48
50 + 200 E	8	0,5			4	144,25	52,7	63,5
100 + 200 E	9	0,5			8	141,4 ± 2,9	49,6±1,45	65 ±1,75

Abkürzungen: TG = Tiergewicht, Hep = Heparin, St = Standard OAV = Ovarascorbinsäureverarmungstest, TrGH = Trokkengewicht der aufgearbeiteten Hypophysen (1mg entspricht 1/2 Hypophyse in situ), $s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Die prozentuale Ovarascorbinsäureverarmung wurde aus der Abnahme gegenüber dem Ascorbinsäuregehalt der Kontrollgruppe berechnet, die nur physiologische NaCl injiziert bekam.

8.3. Versuchsgruppe 3

FSH-Aktivität im Plasma und in den Hypophysen ovariectomierter, mit Oestrogen und Progesteron blockierter Ratten in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Blutentnahme nach Injektion von 37,5 µg Oestronsulfat pro 100 g Tiergewicht.
Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 und 7 und in Abbildung 4 aufgeführt. Die Befunde zeigen, daß die intravenöse Oestronsulfatinjektion einen sofortigen FSH-Release aus der Hypophyse bewirkt, der durch die FSH-Aktivitätszunahme im Plasma bzw. durch den Abfall in den Hypophysen darstellbar ist. 30 Minuten nach intravenöser Injektion erreicht FSH im Plasma ein Maximum, in den Hypophysen den tiefsten Wert. Im Plasma fällt dann der FSH-Spiegel kontinuierlich ab und unterschreitet 90 und 120 Minuten nach intravenöser Injektion die gemessenen Aktivitätsmengen der Kontrollplasmen. Der FSH-Gehalt in den Hypophysen verhält sich gerade umgekehrt. 90 und 120 Minuten nach i.v. Injektion beobachtet man wieder einen deutlichen Anstieg. Der FSH-Aktivitätsunterschied zwischen 30 und 120 Minuten nach i.v. Injektion im Plasma konnte mit dem t-Test nach Student statistisch gesichert werden.

Tabelle 6

FSH-Aktivität (mg Ovargewicht/100 g Tiergewicht) im Plasma ovariektomierter mit Oestrogen und Progesteron blockierter Ratten in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Blutentnahme nach Injektion von 37,5 µg Oestronsulfat pro 100 g Tiergewicht.

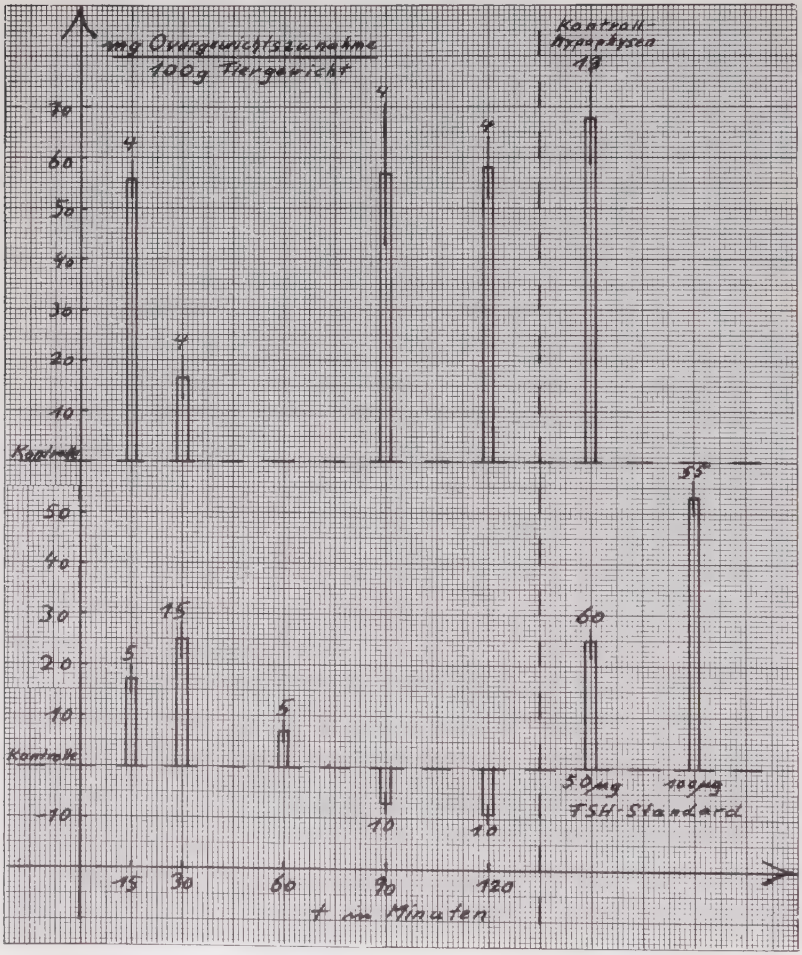
Behandlung der Spenderratten		Gruppe	Behandlung der FSH-Test-Ratten 40 E HCG und			
µg Oestr.Sulf. + 200E Hep / 100 g TG	Entblutung Min. nach i.v. Injektion		FSH-St. inµg	Plasma in ml	Tierzahl	mg OG / 100gTG ± $s_{\bar{x}}$
		1	50		60	144,3 ± 2,7
		2	100		55	172,1 ± 3,3
0,5 ml phys.NaCl + 200 E	30	3		3	48	120,1 ± 2,1
37,5 + 200 E	15	4		3	5	135 ± 2,3
37,5 + 200 E	30	5		3	15	144,3 ± 4,2
37,5 + 200 E	60	6		3	5	126,7 ± 2,2
37,5 + 200 E	90	7		3	10	111,2 ± 3,2
37,5 + 200 E	120	8		3	10	110,6 ± 2,4

Abkürzungen: TG = Tiergewicht, OG = Ovargewicht, St = Standard Hep = Heparin, $s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Zwischen den Gruppen 5 und 8 wurde der t-Test nach Student durchgeführt. Bei den errechneten Prüfungsquotienten von 6,92 und d_f = 23 Freiheitsgraden ist $2\ p < 0{,}001$, d.h. daß zwischen den beiden Gruppen ein Unterschied von 99% statistisch gesichert ist.

Abbildung 4

FSH-Aktivität (mg Ovargewichtszunahme/100 g Tiergewicht) in den Hypophysen (oben) und im Plasma (unten) ovariektomierter, mit Oestrogen und Progesteron blockierter Ratten nach i.v. Injektion von 37,5 µg Oestronsulfat pro 100 g Tiergewicht in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Entblutung bzw. der Hypophysenentnahme.



dünne senkrechte Balken = $s_{\bar{x}}$
Zahlen über den Säulen = Anzahl der Tiere

Tabelle 7

FSH-Aktivität (mg Ovargewicht/100 mg Tiergewicht) in den Hypophysen ovariektomierter, mit Oestrogen und Progesteron blockierter Ratten nach Injektion von 37,5 µg Oestronsulfat/100 g Tiergewicht, in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Entblutung.

Behandlung der Spenderratte		Gruppe	Behandlung der FSH-Test-Ratte 40 E HCG und				
µg Oestr.sulf. / 100 g TG + 200 E Hep / 100 g TG	Entblutung Min. nach i.v. Injektion		FSH-St. in µg	mg TrGH / Tier	phys. NaCl in ml	Tierzahl	mg OG / 100 g TG ± $s_{\bar{x}}$
		1	50			60	144,3 ± 2,7
		2	100			55	172,1 ± 3,3
		3			3	19	116,2 ± 2,5
0,5ml phys. NaCl + 200 E Hep	30	4		1,5		19	181,8 ± 8,9
37,5 + 200 E	15	5		1,5		4	163,12 ± 3,6
37,5 + 200 E	30	6		1,5		4	135,9 ±12,7
37,5 + 200 E	90	7		1,5		4	163,5 ± 10,9
37,5 + 200 E	120	8		1,5		4	164,6 ± 5,6

Abkürzungen: TG = Tiergewicht, OG = Ovargewicht, St = Standard, TrGH = Hypophysentrockengewicht Hep = Heparin, $s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes

8.4. Versuchsgruppe 4

LH-Aktivität im Plasma ovariektomierter, mit Progesteron und Oestrogen blockierter Ratten, in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Entblutung nach i.v. Injektion von 37,5 µg Oestronsulfat pro 100 g Tiergewicht.
Die Ergebnisse zeigen (Tabelle 8), daß 15 Minuten nach i.v. Injektion von 37,5 µg Oestronsulfat pro 100 g Tiergewicht im Plasma ein LH-Anstieg nachweisbar ist, der nach 30 Minuten deutlicher wird und sich bis 120 Minuten nach i.v. Injektion nicht ändert. Auf Grund der geringen Anzahl der Versuche ist eine statistische Auswertung dieser Ergebnisse nicht sinnvoll. Der LH-Gehalt in den Hypophysen wurde in dieser Versuchsanordnung nicht untersucht.

8.5. Versuchsgruppe 5

Bei diesem Versuch sollte getestet werden, ob subkutane Oestronsulfatinjektionen das Ovargewicht infantiler Ratten beeinflußt.
Tiere und Methodik dieses Versuches entsprechen dem FSH-Test nach Steelman und Pohley. Als Lösung wurde jedoch Oestronsulfat injiziert, in Konzentrationen, die bei ovariektomierten, mit Oestrogen und Progesteron blockierten Ratten einen FSH-Release auslösen. In Tabelle 9 sind die gefundenen Ergebnisse aufgeführt. Aus ihnen ist ersichtlich, daß diese Oestronsulfatkonzentrationen das Ovargewicht nicht steigern. Bemerkenswert sind allerdings die gegenüber der Kontrolle erniedrigten Ovargewichte bei den Dosisgruppen 150 und 200 µg Oestronsulfat. Auf Grund der kleinen Zahl von Untersuchungen muß die Prüfung der Signifikanz und die physiologische Interpretation dieser Beobachtung weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Tabelle 8

LH-Aktivität im Plasma ovariektomierter, mit Progesteron und Oestrogen blockierter Ratten in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Entblutung nach intravenöser Injektion von 37,5 µg Oestronsulfat.

Behandlung der Spenderratte		Gruppe	Behandlung der LH-Test-Ratten. Alle Substanzen wurden in 1 ml phys. NaCl gelöst und i.v. gespritzt.				µg Ascorbins. / 100 mg OG		
µg Oestr.sulf. / 100 g TG + 200 E Hep / 100 g TG	Entblutung Min. nach i.v. Injekt.		LH-St. in µg	Plasma in ml	phys. NaCl in ml	Zahl der Tiere	Kontrolle	Experiment	% OAV
		1	5			4	138,5	109,75	21
		2	10			4	138,5	69,8	49,5
		3			1	4		138,5	
0,5ml phys.NaCl + 200 E Hep	30	4		1		4	138,5	130,25	6
37,5 + 200 E	15	5		1		4	138,5	126,9	8
37,5 + 200 E	30	6		1		4	138,5	110,5	20
37,5 + 200 E	90	7		1		4	138,5	110	20
37,5 + 200 E	120	8		1		4	138,5	113	18

Abkürzungen: OG = Ovargewicht, TG = Tiergewicht, Hep = Heparin, St = Standard, OAV = Ovarascorbinsäureverarmung

Die prozentuale Ascorbinsäureverarmung wurde auf den Ascorbinsäuregehalt der Ovarien infantiler mit Gonadotropin vorbehandelter Ratten, die im LH-Test nur physiologische NaCl gespritzt bekamen (Gruppe 3), bezogen.

Tabelle 9

Wirkung verschiedener Mengen Oestronsulfat auf das Ovargewicht infantiler Ratten, die für den FSH-Test nach Steelman-Pohley benützt werden.

Gruppe	HCG-Menge	Injizierte Substanz in µg	Anzahl der Tiere	$\frac{\text{Ovargewicht in mg}}{\text{100 g Tiergewicht}} \pm s_{\bar{x}}$
1	40 IE	50 FSH-Standard	60	144,3 ± 2,7
2	40 IE	100 FSH-Standard	55	172,1 ± 3,3
3	40 IE	1,5 ml phys. NaCl	19	116,2 ± 2,5
4	40 IE	12,5 Oestronsulfat	5	107,0 ± 5,6
5	40 IE	25 Oestronsulfat	10	113,2 ± 4,3
6	40 IE	50 Oestronsulfat	10	113,1 ± 4,1
7	40 IE	100 Oestronsulfat	9	114,4 ± 5,6
8	40 IE	150 Oestronsulfat	5	101,7 ± 3,6
9	40 IE	200 Oestronsulfat	5	108,6 ± 6,4

Der Standard und die Oestronsulfatmengen wurden in 1,5 ml phys. NaCl gelöst und in drei Raten im Abstand von 24 Stunden subkutan injiziert. Zusammen mit den Testsubstanzen wurde jeweils HCG gespritzt, insgesamt 40 IE HCG.

9. Diskussion

Obwohl die Beobachtungen über die Wirkung der Sexualhormone auf die Sekretion der Gonadotropine aus der Hypophyse widersprüchlich sind, gilt es als sicher, daß kurzdauernde, niedrigdosierte Oestrogenapplikationen die Gonadotropinausschüttung steigern, langdauernde, hochdosierte sie dagegen hemmen können (Greep 1961). Die Möglichkeit des positiven "Feed-back" zeigt auch die Physiologie des weiblichen Sexualcyclus (Bogdonave 1964). Es ist wohl so, daß in Abhängigkeit vom Sexualhormonspiegel und dem Verhältnis der Sexualhormone zueinander (vielleicht auch ihrer Stoffwechselmetaboliten) sowohl ein positiver wie ein negativer Feed-back der Gonadotropinsekretion aus dem Hypophysen-Hypothalamus-System steuern (Byrnes und Meyer 1951). Insgesamt gilt auch noch heute, daß die scheinbar einfache Frage von Greep und Jones (1950), "Was bewirkt injiziertes Oestrogen in Bezug auf die Gonadotropin-Sekretion?" noch keinesfealls beantwortet ist.

Die hier vorgelegten Ergebnisse zeigen, daß bei ovariectomierten Ratten, deren Gonadotropin-Releasing-Faktoren durch Progesteron und Oestrogen blockiert sind, intravenöse niedrigdosierte Oestrogeninjektionen (50 µg Oestronsulfat hat etwa die biologische Aktivität von 1 µg - 0,5 µg Oestradiol) Gonadotropine aus der Hypophyse freisetzen. Dieser positive Feedback in Bezug auf den FSH- und LH-Release ist sowohl am erhöhten Hormonspiegel im Plasma, als auch am Abfall ihrer Aktivität in der Hypophyse nachweisbar.

Im Folgenden soll versucht werden, für die experimentellen Beobachtungen dieser Arbeit und ihre Zusammenhänge eine Erklärung zu finden. Diese soll durch schon gesicherte Ergebnisse gestützt werden.

In dem verwendeten Versuchsmodell sind die Hypophysen durch die 4 Wochen zurückliegende Ovariektomie angefüllt mit Gonadotropinen, da sie laufend der gesteigerten Aktivität der hypothalamischen Gonadotropin-Releasing-Faktoren ausgesetzt sind. Werden nun die Oestrogenrezeptoren im Hypothalamus durch eine einmalige hochdosierte Oestrogen- und Progesteroninjektion blockiert, stockt die gesteigerte Freisetzung der Gonadotropin-Releasing-Faktoren aus dem Hypothalamus. Der Hypophyse selbst aber fehlt nun der Reiz zur Ausschüttung ihrer maximal produzierten Gonadotropine. Es gibt Hinweise, daß die Hypophyse autonom kaum FSH und LH freisetzt (Van Rees und Wolthuis 1962). Wirken nun in einem Zeitraum, in dem die übergeordneten hypothalamischen Zentren noch blockiert sind, Oestrogene auf die Hypophyse, dann könnten sie Gonadotropine freisetzen. Das setzt voraus, daß die Hypophyse auf Oestrogene anspricht. Kato und Villee (1967) haben mit radioaktiv markiertem Oestradiol Oestrogenrezeptoren in der Hypophyse nachgewiesen. Van Rees (1961) und Van Rees und Wolthuis (1962) konnten durch Transplantationsversuche einerseits und durch in vitro Versuche andererseits beweisen, daß Oestrogene direkt aus der Hypophyse einen FSH-Release stimulieren können. Kanematsu und Sawyer (1964), Piaczek und Meites (1966) stellten in verschiedenen Versuchen dieselbe Wirkung von Oestrogen direkt auf die Hypophyse für LH fest. Die Ergebnisse dieser Arbeit könnten die direkte Wirkung der Oestrogene bestätigen und die Hypothese von Kanematsu und Sawyer (1964) stützen, daß Oestrogene von der Hypophyse zuerst perzipiert werden und dort einen Gonadotropin-Release verursachen, bevor sie die Bluthirnschranke überschritten haben, und übergeordnete Zentren im Hypothalamus die Hypophysengonadotropinsekretion in Abhängigkeit vom abgetasteten Oestrogen-Istwert zum Sollwert hin korrigieren. Einen Hinweis

dafür, daß Oestrogene zuerst einen positiven und dann einen negativen Feed-back bewirken, erbrachten McCann und Ramirez (1964) an ovariektomierten Ratten, bei denen eine subkutane Oestradiolbenzoatinjektion zuerst einen Anstieg und dann einen Abfall von LH verursachte. Auch könnte der hier gezeigte positive Feed-back dadurch erklärt werden, daß Oestrogen die hypophyseale Sensibilität für Gonadotropin-Releasing-Faktoren erhöht (Johnson 1964)(Döcke und Dörner 1965). Im Kontrollplasma der hier verwendeten kastrierten, blockierten Ratten (siehe Tabellen 2, 7 und 8) war eine wenn auch geringe FSH- und LH-Aktivität nachzuweisen. Es wäre denkbar, daß die Blockade der Gonadotropin-Releasing-Faktoren nicht vollständig ist, und die zugeführten Oestrogene die Wirksamkeit der vermindert vom Hypothalamus ausgeschütteten Gonadotropin-Releasing Faktoren erhöhen.

Um zu sehen, wann und wie lange Oestronsulfat in dieser Versuchsanordnung einen Gonadotropin-Release bewirkt, wurde der FSH- und LH-Gehalt im Plasma und für FSH auch in den Hypophysen in verschiedenen Zeitabständen zur Injektion bestimmt. Ein Anstieg von FSH und LH konnte schon 15 Minuten nach Injektion, ein Maximum nach 30 Minuten festgestellt werden. Danach fiel der FSH-Gehalt kontinuierlich ab, der LH-Gehalt blieb auf dem gleichen Niveau bis 120 Minuten nach Injektion. Dieser sofortige FSH- und LH-Anstieg nach i.v. Injektion wird als weiterer Beweis der direkten Wirkung des Oestrogens auf die Hypophyse angesehen.

Auffallend sind die zeitabhängigen FSH-Aktivitätsänderungen in der Hypophyse. Der FSH-Gehalt fiel bis 30 Minuten nach Injektion ab, entsprechend dem Anstieg im Plasma. Nach 90 bzw. 120 Minuten stieg die FSH-Aktivität überraschenderweise wieder an. Eine mögliche Deutung dafür ist, daß die Hypophysen sofort nach dem

FSH-Release ihre Speicher unabhängig von äußeren Stimuli wieder auffüllen. Diese autonome Gonadotropin-Synthese-Leistung der Hypophyse könnte auch aus den Versuchen von Jutisz und de la Llosa (1967) mit dem FSH-RF abgelesen werden. In diesem Sinne können auch die Versuche von Corbin und Story (1966) verwertet werden. Sie beobachteten nach FSH-RF Injektion eine FSH-Aktivitätsabnahme bis zur 45. Minute, dann einen kontinuierlichen Anstieg des FSH-Gehaltes des Hypophyse, der nach 4 Stunden den Ausgangswert wieder erreichte. Da bei den hier gemachten Versuchen eine ähnliche Zeitabhängigkeit herrscht, kann man schließen, daß Oestrogen wie FSH-RF follikelstimulierendes Hormon aus der Hypophyse freisetzt. Um auszuschließen, daß Oestronsulfat für die Ovargewichtszunahme verantwortlich ist, wurde dieses Präparat direkt FSH-Test-Ratten injiziert. Die Ergebnisse bei entsprechender Dosierung zeigen, daß die beobachteten Ovargewichtsanstiege nicht dem Oestronsulfat zuzuschreiben sind. Zum anderen ist bewiesen, daß Oestrogene nur in höherer Dosierung das Ovargewicht erhöhen (Greep und Jones 1950)(Payne und Runser 1959).

Das Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, ob Oestrogen Gonadotropine aus der Hypophyse freisetzt und ob eine Dosiswirkungskurve zwischen dem injizierten Oestrogen und dem freigesetzten Gonadotropin besteht, auf die Gonadotropin-Releasing-Faktor-Präparationen bezogen werden könnten. Die Gonadotropinfreisetzungsfähigkeit von Oestronsulfat konnte, wenn auch für LH undeutlicher, nachgewiesen werden. Eine Dosiswirkungsbeziehung zwischen dem injizierten Oestrogen und dem freigesetzten Gonadotropin konnte nur für den FSH-Release im Bereich von 25 - 50 µg Oestronsulfat pro 100 g Tiergewicht gezeigt werden.

Weiteren Untersuchungen bleibt nun vorbehalten, eine Parallelität zwischen der Dosiswirkungskurve von Oestronsulfat und einer aktiven FSH-Releasing-Faktor-Präparation nachzuweisen. Diese Parallelität ist die Bedingung, um Oestronsulfat als Standardsubstanz für FSH-RF Aktivität benutzen zu können.

10. Zusammenfassung

Gonadotropin-Releasing-Faktoren-Präparationen können bisher nur als minimal wirksame Dosis angegeben werden. Für ihre weitere Erforschung besteht die Notwendigkeit, eine Standardisierungssubstanz zu finden, auf die Gonadotropin-Releasing-Aktivität bezogen werden kann. Oestrogene können unter bestimmten Bedingungen genauso wie die Gonadotropin-Releasing-Faktoren FSH und LH aus der Hypophyse freisetzen. In dieser Arbeit sollte daher untersucht werden, ob Oestrogen als Standardisierungssubstanz für Gonadotropin-Releasing-Aktivität geeignet ist. Der Nachweis der Gonadotropin-Releasing-Aktivität von Oestrogen erfolgte an ovariektomierten Ratten, deren Gonadotropin-Releasing-Faktoren durch Progesteron und Oestrogen blockiert waren. Als Oestrogenpräparat diente Oestronsulfat, das in steigender Dosierung, in phys. NaCl gelöst, zusammen mit 200 E Heparin den Tieren in die Schwanzvene gespritzt wurde. Zu verschiedenen Zeitpunkten nach Injektion wurden die Tiere durch Punktion der Vena jugularis entblutet. Im Plasma und in den Hypophysen dieser Tiere wurde der FSH-und LH Gehalt bestimmt. In dieser Versuchsanordnung konnte ein positiver Feed-back von Oestronsulfat in Bezug auf die Gonadotropin-Freisetzung aus der Hypophyse gezeigt werden, der sofort nach i.v. Injektion beginnt und nach 30 Minuten ein Maximum erreicht, FSH fällt dann im Plasma wieder ab, während der LH-Spiegel sich nicht ändert.

In den Hypophysen fiel die FSH-Aktivität bis 30 Minuten nach Injektion ab und stieg 90 bzw. 120 Minuten nach Injektion wieder an. Außerdem wurde beobachtet, daß in einem Dosisbereich von 25 µg bis 50 µg Oestronsulfat pro 100 g Tiergewicht 30 Minuten nach i.v. Injektion Oestronsulfat einen dosisabhängigen FSH-Release bewirkt. Der Wirkungsunterschied konnte statistisch gesichert werden. Ein geringer LH-Release wurde in diesem Versuchsmodell zwischen 25 µg und 75 µg Oestronsulfat pro 100 g Tiergewicht erreicht, der jedoch nicht dosisabhängig war.
Eine Dosiswirkungsbeziehung zwischen dem injizierten Oestronsulfat und dem freigesetzten Gonadotropin konnte also nur für FSH nachgewiesen werden.
An weiteren Untersuchungen ist es nun zu klären, ob eine Parallelität zwischen der hier gefundenen Dosiswirkungsbeziehung von Oestronsulfat und einer hochaktiven FSH-Releasing-Faktor-Präparation besteht. Ist dies der Fall, dann kann Oestronsulfat als Standardsubstanz für FSH-RF Aktivität benutzt werden.

11. Literaturverzeichnis

Achally, A.V., J.Meites, C.Y. Bowersand A. Ratner:
Identity of prolactin inhibiting factor (PIF) and luteinizing hormone-releasing factor (LRF).
Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 117 (1964) 252 - 254

Ammon, R. und W. Dirscherl
Fermente - Hormone - Vitamine, Band II (Hormone)
G. Thieme Verlag, Stuttgart (1960) 578 - 600

Arimura, A., T. Saito, E.E. Müller, C.Y. Bowers, S.Sawano and A.V. Schally
Absence of prolactin release inhibiting activity in highly purified LH-releasing factor.
Endocrinology 80 (1967) 972 - 974

Arimura, A., A.V. Schally, T. Saito,E.E. Müller and C.Y. Bowers
Induction of ovulation in rats by highly purified pig LH-releasing factor (LRF).
Endocrinology 80 (1967) 515 - 520

Barraclough, C.A. and Sawyer, Ch.H.
Inhibition of the release of pituitary ovulatory hormone in the rat by morphine.
Endocrinology 57 (1955) 329 - 337

Barraclough, C.A. and Ch.H. Sawyer
Induction of pseudopregnancy in the rat by reserpine and chlorpromazine.
Endocrinology 65 (1959) 563 - 571

Barnett, R. J. and Roy O. Greep
The pituitary gonadotropic activity of stalksectioned male rats.
Endocrinology 49 (1951) 337 - 348

Bindoni, M. and R. Raffaele
Mitotic activity in the adenohypophysis of rats after pinealectomy.
J. Endocr. 41 (1968) 451 - 452

Blobel, R.
Die zentrale Regelung der Ovarialfunktion.
Der Gynäkologe Band 1, Heft 3 (1969)

Blobel, R. und H.D. Schlumberger
Über die zentrale Steuerung der weiblichen Gonadenfunktion.
Med. Welt 18 (1967) 3132 - 3141

Blobel, R., H.D. Schlumberger und S. Heller
Proof of FSH-releasing activity in human hypothalamus.
Acta Endocrinol. (Kbh.) Suppl. 119 (1967) 103

Bogdanove, E.M.
Direct gonad-pituitary feedback: an analysis of effects of intracranial estrogenic depots on gonadotrophin secretion.
Endocrinology 73 (1963) 696 - 712

Bogdanove, E.M.
The role of the brain in the regulation of pituitary gonadotrophin secretion. In: Vitamins and Hormones, ed. by R.S. Harris, J.A. Loraine and J.G. Wood
Academic Press, New York, vol. 22 (1964) 205 - 260

Bogdanove, E.M., B.N. Spirtos and N.S. Halmi
Further observation on pituitary structure and function in rats bearing hypothalamic lesions.
Endocrinology 57 (1955) 302 - 315

Botros, M. D. Lindsay, E. Poulson and J.M. Robson
First international pharmacological meeting. Stockholm, Schweden 1961.
Biochem. Pharmacol. 8 (1961) Abstracts Nr. 343

Bradbury, J.T.
Ovarian influence on the response of the anterior pituitary to estrogens.
Endocrinology 41 (1947) 501 - 513

Brown, P.S.
The effect of reserpine, 5-hydroxytryptamine and other drugs on induced ovulation in immature mice.
J. Endocr. 35 (1966) 161 - 168

Brown, P.S.
The effect of 5-hydroxytryptamine and two of its antagonists on ovulation in the mouse.
J. Endocr. 37 (1967) 327 - 333

Byrnes, W.W. and R. K. Meyer
Effect of physiological amounts of estrogen on the secretion of follicle stimulating and luteinizing hormones.
Endocrinology 49 (1951) 449 - 460

Callantine, M.R., B.R. Humphrey and B.L. Nesset
LH-release by 17-ß-estradiol in the rat.
Endocrinology 79 (1966) 455 - 456

Campbell, H. J., G. Feuer and G.W. Harris
The effect of intrapituitary infusion of median eminence and other brain extracts on anterior pituitary gonadotrophic secretion.
J. Physiol. (Lond.) 170 (1964) 474 - 486

Chowers, I. and S. M. McCann
Content of luteinizing hormone-releasing factor and luteinizing hormone during the estrous cycle and after changes in gonadal steroid titers.
Endocrinology 76 (1965) 700 - 708

Clegg, M. T., J. A. Santalucito, J. D. Smith and W. F. Ganong
The effect of hypothalamic lesions on sexual behavior and estrous cycles in the ewe.
Endocrinology 62 (1958) 790 - 797

Coppola, J.A., R. G. Leonardi, W. Lippmann, J. W. Perrine and I. Ringler
Induction of pseudopregnancy in rats by depletors of endogenous catecholamine.
Endocrinology 77 (1965) 485 - 490

Coppola, J. A., R. G. Leonardi and W. Lippmann
Ovulatory failure in rats after treatment with brain norepinephrine depletors.
Endocrinology 78 (1966) 225 - 228

Corbin, A.
Pituitary and plasma LH of ovarectomized rats with median eminence implants of LH.
Endocrinology 78 (1966) 893 - 896

Corbin, A. and A. I. Cohen
Effect of median eminence implants of LH on pituitary LH of female rats.
Endocrinology 78 (1966) 41 - 46

Corbin, A. and J. C. Story
Depletion and resynthesis of pituitary FSH: time course of events following treatment with hypothalamic FSH-releasing factor.
Experientia 22 (1966) 694

Corbin, A. and J.C. Story
"Internal" feedback mechanism. Response of pituitary FSH and of stalk median eminence follicle stimulating hormone-releasing factor to median implants of FSH.
Endocrinology 80 (1967) 1006 - 1012

Green, J.D. and G. W. Harris
The neurovascular link between the neurohypophysis and the adenohypophysis.
J. Endocr. 5 (1947) 136 - 146

David, M.A., F. Fraschini and L. Martini
An in vivo method for evaluating the hypothalamus follicle stimulating hormone releasing factor.
Experientia 21 (1965) 483

Davidson, J.M. and C.H. Sawyer
Effects of localized intracerebral implantation for oestrogen on reproductive function in the female rabbit.
Acta Endocr. 37 (1961) 385 - 393

De la Lastra, M. and H. Croxatto
Ovarian ascorbic acid depleting activity in human brain extracts.
Nature London 204 (1964) 583 - 584

Desclin, L., J. Flament-Durand and W. Gepts
Transplantation of the ovary to the spleen in rats with persistent estrus resulting from hypothalamic lesions.
Endocrinology 70 (1962) 429 - 436

Dey, F. L.
Evicence of hypothalamic control of hypophyseal gonadotropic function in the female guinea pig.
Endocrinology 33 (1943) 75 - 82

Dhariwal, A. P. S., R. Nallar, M. Batt and S. M. McCann
Separation of follicle-stimulating hormone releasing factor from luteinizing hormone releasing factor.
Endocrinology 76 (1965) 290 - 294

Diczfalusy, E. und Chr. Lauritzen
Oestrogene beim Menschen.
Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1961) 22

Döcke, F. and G. Dörner
The mechanism of the induction of ovulation by oestrogens
J. Endocr. 33 (1965) 491 - 499

Donoso, A. O., F.J.E. Stefano, A. M. Biscardi and J. Cukier
Effects of castration on hypothalamic catecholamin.
Am. J. Physiol. 212 (1967) 737 - 739

Donovan, B. T.
The feedback action of ovarian hormones in the ferret.
J. Endocr. 38 (1967) 173 - 179

Donovan, B. T.
Light and the control of the oestrus cycle in the ferret.
J. Endocrin. 39 (1967) 105 - 113

Donovan, B. T. and W. Traczyk
Uterine distension and the vaginal cycle in the guinea pig.
J. Physiol. (Lond.) 154 (1960) 50 - 51

Dorfman, R. J. and A.S. Dorfman
Pituitary gonadotropic inhibitory action of estrone in parabiotic rats.
Endocrinology 72 (1963) 115 - 116

Dörner, G. und Hohlweg, W.
Hemmung der Ausbildung von Kastrationshypophysen durch Morphin.
Archiv für Gynäkologie 191 (1959) 463 - 466

Eisenfeld, A. J. and J. Axelrod
Evidence for estradiol binding sites in the hypothalamus.
Biochem. Pharmacol. 16 (1967) 1781 - 1785

Eleftheriou, B. E. and A. J. Zolovick and R.L. Norman
Effects of amygdaloid lesions on plasma and pituitary levels of luteinizing hormone in the male deermouse.
J. Endocr. 38 (1967) 469 - 474

Elwers, M. and V. Chritchlow
Precocious ovarian stimulation following hypothalamic and amygdaloid lesions in rats.
Amer. J. Physiol. 198 (1960) 381

Endröczi, E. and J. Hilliard
Luteinizing hormone releasing activity in different parts of rabbit and dog brain.
Endocrinology 77 (1965) 667 - 673

Everett, J. W.
Hormonal factors responsible for deposition of cholesterol in the corpus luteum of the rat.
Endocrinology 41 (1947) 364 - 377

Everett, J.W.
Progesterone and estrogen in the experimental control of ovulation time and other features of the estrous cycle in the rat.
Endocrinology 43 (1948) 389 - 405

Everett, J. W.
The mammalian female reproduction cycle and its controlling mechanism.
Sex and Internal Secretion, Vol. I, 1961[3], 497 - 555
Ed. by W.C. Young, Williams and Wilkins Co, Baltimore 1961

Everett, J.W.
Central neural control of reproductive functions of the adenohypophysis.
Physiological Reviews 44 (1964) 373 - 431

Everett, J. W.
Ovulation in rats from preoptic stimulation trough platinum electrodes. Importance of duration and spread of stimulus.
Endocrinology 76 (1965) 1195 - 1201

Everett, J.W. and C.H. Sawyer
A 24-hour periodicity in the "LH-release-apparatus" of female rats, disclosed by barbiturate sedation.
Endocrinology 47 (1950) 198 - 218

Everett, J. W., C.H. Sawyer and J.E. Markee
A neurogenic timing factor in control of the ovulatory discharge of luteinizing hormone in the rat.
Endocrinology 44 (1949) 234 - 250

Fawcett, C.P., M. Reed, H.M. Charlton and G.W. Harris
The purification of luteinizing hormone releasing factor with some observations on its properties.
Biochem. J. 106 (1968) 229 - 236

Fieser, F.L. und M. Fieser
Steroide
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. (1961) 587 - 550

Flerkó, B.
Zur hypothalamischen Steuerung der gonadotropen Funktion der Hypophyse.
Acta morph. Acad. sci. hung. 4 (1954) 475 - 492
zitiert nach Szentágothai, J., a.a.O.

Flerkó, B.
Einfluß experimenteller Hypothalamusläsion auf die durch Follikelhormon indirekt hervorgerufenen Hemmung der Luteinisation.
Endokrinologie 34 (1957) 210

Flerkó, B. und V. Bárdos
Zwei verschiedene Effekte experimenteller Läsion des Hypothalamus auf die Gonaden.
Acta Neurovegetativa 20 (1960) 248 - 261

Flerkó, B. and J. Szentágothai
Oestrogen sensitive nervous structures in the hypothalamus.
Acta Endocr. 26 (1957) 121 - 127

Fraschini, F., B. Mess and L. Martini
Pineal gland, melatonin and the control of luteinizing hormone secretion.
Endocrinology 82 (1968) 919

Fraschini, F., M. Motta and L. Martini
A short feedback mechanism controlling FSH secretion.
Experientia 24 (1968) 270 - 271

Gallardo, E. and H.J. Campbell
Gonadotrophin-releasing activity in the median eminence of the newborn rabbit.
Proceedings of the Society for Endocrinology.
98. Meeting, London, 1965
J. Endocrin. 33 (1965) VII

Geigy AG
Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen, 6. Auflage 1962, 146 - 170
Hrsg. von J.R. Geigy AG, Pharmazeutische Abteilung,Basel

Gellert, R.J., E. Bass, C. Jakobs, R. Smith and W.F. Ganong
Precocious vaginal and cornification in rats following injections of extracts of steer median eminence and Pars tuberalis.
Endocrinology 75 (1964) 861 - 866

Gitsch, E. and Everett, J.W.
Influence of the anticholinergic drug Pathilon on the reproductive cycle of the female rat.
Endocrinology 62 (1958) 400 - 409

Greep, R. O.
Physiology of the anterior hypophysis in relation to reproduction.
Sex and Internal Secretion, vol. I, 1961[3], 240
Ed. by W.C. Young, Williams and Wilkins Co, Baltimore.

Greep, R. O. and Ch.J. Jones
Steroid control of pituitary function.
Recent Progress in Hormone Research 5 (1950) 197 - 261

Greulich, W.W.
Artificially induced ovulation in the rat.
Anat. Rec. 58 (1934) 217 - 224

Greuwald, G.S.
Anti-ovulatory potency of various steroids determined by single injection into female hamsters.
J. Endocr. 33 (1965) 25 - 32

Guiliani, G., L. Martini, A. Peqile and M. Fochi
Studies of luteinizing hormone release and inhibition.
Acta Endocr. 38 (1961) 1 - 12

Guillemin, R.
Hypothalamic polypeptides releasing pituitary hormones.
Metabolism 13 (1964) 1206 - 1210

Guillemin, R. and B. Rosenberg
Humoral hypothalamic control of anterior pituitary: a study with combined tissue cultures.
Endocrinology 57 (1955) 599 - 607

Hagino, N., J.A. Ramaley and R. A. Gorski
Inhibition of estrogen induced precocious ovulation by pentobarbital in the rat.
Endocrinology 79 (1966) 541 - 545

Halász, B. and R. Gorski
Gonadotropic hormone secretion in female rats after partial and total interruption of neural afferents to the basal hypothalamus.
Endocrinology 80 (1967) 608 - 622

Halász, B., L. Pupp and S. Uhlaric
Hypophysiotrophic area in the hypothalamus.
J. Endocr. 25 (1962) 147 - 152

Harrington, P.E., R.G. Eggert and R.D. Wilbur
Induction of ovulation in chlorpromazin-blocked rats.
Endocrinology 81 (1967) 877 - 881

Harris, G.W.
The induction of ovulation in the rabbit by electrical stimulation of the hypothalamo-hypophyseal mechanism.
Proc. Roy. Soc. B. 122 (1937) 374 - 394

Harris, G.W.
Hypothalamic control of the anterior pituitary gland.
Ciba Foundation, Colloquia on Endocrinology, vol IV (1952) 106 - 114

Harris, G.W.
Neural control of the pituitary gland.
Monographs of the Physiological Society. Edward Arnold (Publishers) 1955

Harris, G.W. and D. Jacobsohn
Functional hypophyseal grafts.
Ciba Foundation, Colloquia on Endocrinology, vol. VIII
(1952) 115 - 123

Haterius, H.O. and A.J. Derbyshire jr.
Ovulation in the rabbit following upon stimulation of
the hypothalamus.
Amer. J. Physiol. 119 (1937) 329 - 330

Hayward, J.N., J. Hilliard and C.H. Sawyer
Time of release of pituitary gonadotropin induced by
electrical stimulation of the rabbit brain.
Endocrinology 74 (1964) 108 - 113

Heller, S., R. Blobel und H.D. Schlumberger
Gonadotropin-Releasing Aktivität im menschlichen Hypo-
thalamus.
6 th World Congress on Fertility and Sterility,
Tel Aviv 1968

Hillarp, N.A.
Studies on the localization of the hypothalamic centres
controlling the gonadotrophic function of the hypophysis.
Acta Endocr. 2 (1949) 11 - 23

Hiroi, M., S. Sugita and M. Suzuki
Ovulation induced by implantation of cupric sulfate
into the brain of the rabbit.
Endocrinology 77 (1965) 963 - 967

Hohlweg, W.
Veränderungen des Hypophysenvorderlappens und des
Ovariums nach Behandlung mit großen Dosen von Follikel-
hormon.
Klin. Wschr. 13 (1934) 92 - 95

Hohlweg, W.
Beziehungen des Hypophysenzwischenhirnsystems zu den
Sexualhormonen.
Wiener Klin. Wochenschrift 73 (1961) 445 - 451

Hohlweg, W. und Max Dohrn
Über die Beziehungen zwischen HVL und Keimdrüsen.
Klin. Wochenschrift 11 (1932) 233

Hohlweg, W. und K. Junkmann
Die hormonal-nervöse Regulierung der Funktion des HVL.
Klin. Wochenschrift 11 (1932) 321 - 323

Hohlweg, W. und Antonio Chamarro
Über die luteinisierende Wirkung des Follikelhormons
durch Beeinflußung der luteogenen Hypophysenvorder-
lappensekretion.
Klin. Wochenschrift 14 (1937) 196

Höhlweg, W. und E. Daume
Lokale hormonale Beeinflußung des Hypophysenzwischenhirnsystems bei Hähnen.
Endokrinologie 37 (1959) 95

Hollwich, F. und S. Tilgner
Über die gonadotrope und thyreotrope Wirkung der Bestrahlung des Auges mit monochromatischen Licht.
Endokrinologie 44 (1963) 167 - 188

Hopkins, T.F. und G. Pincus
Effects of reserpine on gonadotrophin-induced ovulation in immature rats.
Endocrinology 73 (1963) 775 - 780

Igarashi, M. and S.M. McCann
A hypothalamic follicle stimulating hormone releasing factor.
Endocrinology 74 (1964) 446 - 452

Igarashi, M., R. Nallar and S.M. McCann
Further studies on the follicle-stimulating-hormone-releasing action of hypothalamic extracts.
Endocrinology 75 (1964) 901 - 907

Jarret, J.R.
Some endocrine effects of two phenothiazine derivates. Chlorpromazine and Perphenazine in the female mouse.
Brit. J. Pharmakol. 20 (1963) 497 - 506

Johnson, D.C.
Hypophyseal LH release in androgenized female rats after administration of sheep brain extracts.
Endocrinology 72 (1963) 832 - 836

Johnson, D.C.
Effect of hypothalamic extract on hypophyseal in immature male rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 117 (1964) 160 - 163

Johnson, D.C. and D.M. Nelson
Amount of luteinizing hormone activity in extracts of sheep hypothalamus.
Endocrinology 78 (1966) 901 - 902

Jutisz, M. and M. Paloma de la Llosa
Studies on the release of follicle-stimulating hormone in vitro from rat pituitary glands, stimulated by hypothalamic follicle-stimulating-hormone-releasing factor.
Endocrinology 81 (1967) 1193 - 1202

Jutisz, M., A. Bérault, M.-A. Novella et G. Ribot
Etude de l'action de factor hypothalamique LRF (LH-releasing-factor) chez le rat in vivo et in vitro.
Acta Endocr. 55 (1967) 481 - 496

Kanematsu, S. and C.H. Sawyer
Effects of intrahypothalamic implants of reserpine on lactation and pituitary prolactin content in the rabbit.
Proc. Soc. Exp. Biol. 113 (1963) 967 - 969

Kanematsu, S. and C.H. Sawyer
Effects of hypothalamic and hypophyseal estrogen implants on pituitary and plasma LH in ovariectomized rabbits.
Endocrinology 75 (1964) 579 - 585

Kasdon, S.C.
Study on the mechanism of pictrotoxininduced ovulation in the rabbit.
Endocrinology 44 (1949) 211 - 217

Kato, J. and C.A. Villee
Preferential Uptake of estradiol by the anterior hypothalamus of the rat.
Endocrinology 80 (1964) 567 - 575

Kato, J. and C.A. Villee
Factor affecting uptake of estradiol -6,7 H^3 by the hypophysis and hypothalamus.
Endocrinology 80 (1967) 1133 - 1138

Kincl, F.A., H.J. Ringold and R.J. Dorfmann
Pituitary gonadotropin inhibition by s.c. administred steroids.
Acta Endocr. 36 (1961) 83 - 86

Knappe, G. und G. Dörner
Hemmung der Ausbildung von Kastrationshypophysen durch Natriumphenylaethylbarbituricum.
Zentralblatt für Gynäkologie 81 (1959) 207

Kobayashi, T. and Kobayashi, Y.
A study of mechanism by which Copper salt induced ovulation in the rabbit.
Endocr. Jap. 12 (1965) 277 - 288

Kobayashi, T., Y. Kobayashi, T. Kigawa, M. Mizuno, Y. Amenomeri, T. Watanabe and H. Ischakawa
Follicle stimulating hormone releasing factor FSH-RF and luteinizing hormone releasing factor LH-RF in hypothalamic extract.
Endocr. Jap. 14 (1967) 101 - 106

Kragt, C.L., J. Dahlgreen and W.F. Ganong
Hypothalamic FSH-RF content of rats at various ages.
Third Internat. Congress of Endocrionology, Mexico 1968
Excerpt Nr. 345

Kuroshima, A., Y. Ishida, C.Y. Bowers and A.V. Schally
Stimulation of release of follicle-stimulating hormone by hypothalamic extracts in vitro and in vivo.
Endocrinology 76 (1965) 614 - 619

Kuroshima, A., A. Arimura, T. Saito, Y. Ishida, C.Y. Bowers and A.V. Schally
Depletion of pituitary follicle-stimulating hormone by beef and pig hypothalamic extracts.
Endocrinology 78 (1966) 1105 - 1108

Labhsetwar, A.P.
Differential effects of reserpine on pituitary luteinizing hormone and follicle stimulating hormone levels in the female rat.
Endocrinology 81 (1967) 257 - 262

Lawton, E.J. and N.B. Schwartz
Pituitary LH-Content in rats. Exposed to continuous illumination.
Endocrinology 77 (1965) 1140 - 1142

Lindsay, D., E. Poulson and J.M. Robson
The effect of 5-hydroxytryptamine on pregnancy.
J. Endocr. 26 (1963) 85 - 96

Lippmann, W., R. Leonardi, J. Ball and J.A. Coppola
Relationship between hypothalamic catecholamines and gonadotrophin secretion in rats.
The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 156 (1967) 258 - 266

Lisk, R.D. and M. Newlon
Estrogen: evidence for its direct effect on hypothalamic neurons.
Science 139 (1963) 223 - 224

Mahnert, A.
Hypophysenvorderlappen und Ovarien. Tierexperimentelle Untersuchungen über das Bestehen wechselseitiger Beziehungen zwischen Ovarien und dem Hypophysenvorderlappen.
Zbl. Gynäk. 52 (1928) 1754

Markee, J.E., C.H. Sawyer and W.H. Hollinshead
Activation of the anterior hypophysis by electrical stimulation in the rabbit.
Endocrinology 38 (1946) 345 - 357

Markee, J.E., C.H. Sawyer and W.H. Hollinshead
Adrenergic control of the release of luteinizing Hormone from the hypophysis of the rabbit.
Recent Progress in Hormone Research, vol.II (1948) 117 - 131

Markee, J.E., J.W. Everett and C.H. Sawyer
The relationship of the nervous system to the release of gonadotropin and the regulation of the sex cycle.
Recent Progress in Hormone Research, vol. VII (1952) 139 - 163

Martini, L., L. Mira, A. Pecile and S. Saito
Neurohypophysical hormones and release of gonadotrophins.
J. Endocr. 18 (1959) 245 - 250

McCann, S.M.
A hypothalamic luteinizing-hormone-releasing factor.
Amer. J. Physiol. 202 (1962) 395 - 400

McCann, S.M. and A.P.S. Dhariwal
Hypothalamic factors which influence gonadotropin secretion.
Trans N.Y. Acad. Scie 27 (1964) 39 - 44

McCann, S.M. and V.D. Ramirez
The neuroendocrine regulation of hypophyseal luteinizing hormone secretion.
Recent Progress in Hormone Research, vol.XX (1964) 131 - 170

McCann, S.M. and S. Taleisnik
The effect of estrogen on plasma luteinizing hormone (LH) activity in the rat.
Endocrinology 69 (1961) 909 - 914

McCann, S.M., S. Taleisnik und H.M. Friedmann
LH-releasing activity in hypothalamic extracts.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 104 (1960) 432 - 434

McCann, S.M. and V.D. Ramirez and M. Igarashi
Hypothalamic FSH-and LH-Releasing factors.
Metabolism 13 (1964) 1177 - 1189

Michael, R.P.
Estrogen sensitive neurons and sexual behavior in female cats.
Science 136 (1962) 322 - 323

Mittler, J.C. and J. Meites
Effects of hypothalamic extracts and androgen in pituitary FSH-release in vitro.
Endocrinology 78 (1966) 500 - 504

Mittler, J.C. and J. Meites
Effects of epinephrine and acetylcholine on hypothalamic content of prolactin inhibiting factor.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 124 (1967) 310 - 311

Moore, W.W.
Failure of adrenergic and cholinergic blocking agents to block ovulation in the rat.
Am. J. Physiol. 200 (1961) 1293 - 1295

Motta, M. F. Fraschini and L. Martini
Endocrine effects of pineal gland and of melatonin.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 126 (1967) 431 - 435

Nallar, R., J. Antunes-Rodriguez, S.M. McCann
Effect of progesteron on the level of plasma luteinizing hormone LH in normale female rats.
Endocrinology 79 (1966) 907 - 911

Negro-Vilar, A., E. Dickermann and J. Meites
Effects of continuous light on hypothalamic FSH-releasing factor and pituitary FSH-levels in rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 127 (1968) 752 - 755

Nikitowitch-Winer, M.
Induction of ovulation in rats by direct intrapituitary infusion of median eminence extracts.
Endocrinology 70 (1962) 350 - 358

Nikitowitch-Winer, M. and J.W. Everett
Comparative study of luteotropin secretion by hypophyseal autotransplants in the rat. Effects of site and stages of the estrus cycle.
Endocrinology 62 (1958) 522 - 532

Nikitowitch-Winer, M. and J.W. Everett
Functional restitution of pituitary grafts re-transplanted from kidney to median eminence.
Endocrinology 63 (1958) 916 - 930

O'Steen, W.K.
Serotonin suppression of luteinizing in gonadotrophin-treated, immature rats.
Endocrinology 74 (1964) 885 - 888

Paesi, F.J.A. and G.P. van Rees
The effect of gonadectomy on the response of the pituitary I.C.S.H.-content to steroid sex hormones.
Acta Endocr. 35 (1960) 235 - 244

Palka, Y. and C.H. Sawyer
The effects of hypothalamic implants of ovarian steroid on oestrus behavior in rabbits.
J. Physiol. 185 (1966) 251 - 269

Parlow, A.F.
A rapid bioassay for LH and factors stimulating LH secretion.
Fed. Proc. 17 (1958) 402

Parlow, A.F.
Importance of differential quantitative bioassay for pituitary gonadotrophins in the rat.
Endocrinology (1964) 138 - 141

Parlow, A.F.
Differential action of small doses of estradiol on gonadotrophins in the rats.
Endocrinology 75 (1964) 1 - 8

Paschkis, K.E. and A.E. Rakaff
Some aspects of the physiology of estrogenic hormones.
Recent Progress in Hormone Research, vol.V (1950) 115 - 149

Payne, R.W. and R.H. Runser
Quantitative Response of the rat ovary to pituitary gonadotrophins as modified by estrogen.
Endocrinology 65 (1959) 383 - 388

Piacsek, B.E. and J. Meites
Effects of castration and gonadal hormones on hypothalamic contents of luteinizing hormone releasing factor (LRF).
Endocrinology 79 (1966) 432 - 439

Piacsek, B.E. and J. Meites
Reinitation of gonadotropin release in underfed rats by constant light or epinephrine.
Endocrinology 81 (1967) 535 - 541

Polishuk, W.Z. and S. Kulczar
Effects of chlorpromazine on pituitary function.
J. Clin. Endocr. 16 (1956) 292 - 293

Popa, G.T. and U. Fielding
A portal circulation from the pituitary to the hypothalamic region.
J. of Anat. 65 (1931) 88 - 91

Presl, J.
The time relationship between oestrogen administration and the secretion of LH hormone in rats.
Acta Endocr. 36 (1961) 443 - 454

Quinn, D.L. and X.S. Zarrow
Inhibition if the release of the ovulating hormone in immature rats with hypothalamic lesion.
Endocrinology 77 (1965) 255 - 263

Radford, H.M.
Electrical stimulation of ovulation in the ewe.
J. Endocr. 38 (1967) 477 - 478

Ralph, C.L. and R.H. Fraps
Effect of hypothalamic lesions on progesterone-induced ovulation in the hen.
Endocrinology 65 (1959) 819 - 824

Ramaley, J.A. and R.A. Gorski
The effect of hypothalamic deafferentation upon puberty in the female rat.
Acta Endecr. 56 (1967) 661 - 674

Ramirez, V.D. and S.M. McCann
Comparison of the regulation of luteinizing hormone secretion in immature and adult rats.
Endocrinology 72 (1963) 452 - 464

Ramirez, V.D. and S.M. McCann
A highly sensitive test for LH-releasing activity: the ovariectomized, estrogen progesteron-blocked rat.
Endocrinology 73 (1963) 193 - 198

Ramirez, V.D. and C.H. Sawyer
Advancement of puberty in the female rat by estrogen.
Endocrinology 76 (1965) 1158 - 1168

Ramirez, V.D., R. Nallar and S.M. McCann
Purification of luteinizing hormone-releasing factor from beef hypothalamus.
Proc. Soc. Exp. Biol. 115 (1964) 1072 - 1076

Ramirez, V.D., R.M. Abrams and S.M. McCann
Effect of estradiol implants in the hypothalamo-hypophyseal region of the rat on the secretion of luteinizing hormone.
Endocrinology 75 (1964) 243 - 248

Robson, J.M. and M. Botros
The effect of 5 hydroxytryptamine and of monoamine-oxidase inhibitors on sexual maturity.
J. Endocr. 22 (1961) 165 - 175

Sackler, A.M., A.S. Weltmann, M. Bradshaw and P.Jurt-shuk jr.
Endocrine changes due to auditory stress.
Acta Endocr. 31 (1959) 405 - 418

Saffran, M., A.V. Schally and B.G. Benfey
Stimulation of the release of corticotropin from the adenohypophysis by a neurohypophysial factor.
Endocrinology 57 (1955) 439 - 444

Saito,R., A. Arimura, E.E. Müller, C.Y. Bowers and A.V. Schally
In vivo release of follicle-stimulating hormone following administration of hypothalamic extracts in normal, castrated and castrated testosterone-treated rats.
Endocrinology 80 (1967) 313 - 318

Saitò, R., S. Sawano, A. Arimura and A.V. Schally
FSH Releasing activity in peripheral blood.
Endocrinology 81 (1967) 1226

Samli, M.H. and J.J. Geschwind
Some effects of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor on the biosynthesis and release of luteinizing hormone.
Endocrinology 81 (1967) 835 - 848

Sawyer, C.H.
Stimulation of ovulation in the rabbit by the intraventricular injection of epinephrine and norepinephrine.
Anat. Rec. 112 (1952) 385

Sawyer, C.H.
Rhinencephalic involvement in pituitary activation by intraventricular histamine in the rabbit under nembutal anesthesia.
Am. J. Physiol. 180 (1955) 37 - 46

Sawyer, C.H.
Triggering of the pituitary by the central nervous system.
In: Physiological Triggers (1957) 164 - 174
Ed. by Th.H. Bullock, Am. Physiological Society

Sawyer, C.H.
Seasonal variation in the incidence of spontaneous ovulation in rabbits following estrogen treatment.
Endocrinology 65 (1959) 523 - 525

Sawyer, C.H. and J.E. Markee
The differential mechanism by which picrotoxin and copper acetate induce ovulation in the rabbit.
Endocrinology 46 (1950) 177 - 190

Sawyer, C.H., B.V. Chritchlow and Ch.A. Barraclough
Mechanism of blockade of pituitary activation in the rat by morphine, atropine and barbiturate.
Endocrinology 57 (1955) 345 - 354

Sawyer, C.H., J.W. Everett and J.E. Markee
A neural factor in the mechanism by which estrogen induces the release of luteinizing hormone in the rat.
Endocrinology 44 (1949) 218 - 233

Sawyer, C.H., J.E. Markee and J.W. Everett
Further experiments on blocking pituitary activation in the rabbit and the rat.
J. Expt. Zool. 113 (1950) 659 - 682

Sawyer, C.H., J.E. Markee and J.W. Everett
Blockade of neurogenic stimulation of the rabbit adenohypophysis by banthine.
Am. J. Physiol. 166 (1951) 223 - 228

Sawyer, C.H., J.E. Markee and B.F. Townsend
Cholinergic and adrenergic components in the neurohumoral control of the release of LH in the rabbit.
Endocrinology 44 (1949) 18 - 37

Smith, E.R. and J.M. Davidson
Role of estrogen in the cerebral control of puberty in female rats.
Endocrinology 82 (1968) 100 - 108

Somnath, R., B.R. Greenblatt and V.B. Makesch
Effects of clomiphene on the physiology of reproduction in the rat.
I Changes in the hypophyseal-gonadal axis.
Acta Endocr. 47 (1964) 645 - 656

Somnath, R., B. Virenda, B. Makesch and R.B. Greenblatt
Effects of clomiphene on the physiology of reproduction in the rat.
III Inhibition of uptake of radio active oestradiol by the uterus and the pituitary gland of immature rat.
Acta Endocr. 47 (1964) 669 - 675

Suzuki, M. and G.Bialy
Studies on copper induced ovulation in the rabbit.
Endocrinology 74 (1964) 780 - 783

Suzuki, M. And G. Bialy
Fertilizybility of copper-ovulated rabbit ova.
Endocrinology 75 (1964) 288 - 289

Suzuki, M., M. Hirano and H. Sugiyama
Mechanism of secretion of gonadotrophin from the adenohypophysis.
Tohoku J. Exper. Med. 75 (1961) 332 - 340

Suzuki, M. S. Watanabe and M. Hoshü
Effect of estrogen on copper-induced ovulation in the rabbit.
Endocrinology 76 (1965) 1205 - 1207

Swelheim, T.
The influence of a single high dose of oestradiol benzoate on the ICSH content in the serum of gonadectomized male and female rats.
Acta Endocr. 49 (1965) 231 - 238

Szentágothai, J., B. Flerkó, B. Mess and B. Halász
Hypothalamic Control of the anterior pituitary.
Akademiai Kiadó, Budapest 1968

Szontágh, F.E. and S. Uhlparik
The possibility of a direct "internal" feedback in the control of pituitary gonadotrophin secretion.
J. Endocr. 29 (1964) 203 - 204

Schally, A.V. and C.Y. Bowers
Purification of luteinizing hormone releasing factor from bovine hypothalamus.
Endocrinology 75 (1964) 608 - 614

Schally, A.V. and C.Y. Bowers
Corticotropin-releasing factors and other hypothalamic peptides.
Metabolism 13 (1964) 1190 - 1205

Schally, A.V., W.H. Carter, A. Arimura and C.Y. Bowers
Effect of purified luteinizing hormone releasing factor on plasma and pituitary LH levels in castrated male and female rats.
Endocrinology 81 (1967) 1173 - 1176

Schally, A.V., A. Kastin, W. Loche and C.Y. Bowers
Hypothalamic releasing and inhibiting factors.
In: Hormones in Blood, vol. I (1967) 491 - 518
Ed. by Gray and Bacharach, Academic Press London and N.Y.

Schally, A.V., T. Saito, A. Arimura, E.E. Müller, C.Y. Bowers and W.F. White
Purification of follicle stimulating hormone releasing factor (FSH-RF) from bovine hypothalamus.
Endocrinology 79 (1966) 1087 - 1094

Schally, A.V., E.E. Müller, A. Arimura, C.Y. Bowers, T. Saito, T.W. Redding, S. Sawano and Ph. Pizzolato
Releasing factors in human hypothalamic and neurohypophyseal extracts.
J. Clin. Endocr. and Metabolism 27 (1967) 755 - 762

Scharrer, E. and B. Scharrer
Hormones produced by neurosecretory cells.
Recent Progress in Hormone Research, vol.X (1954) 183 - 240

Shiavi, R., M. Jutisz, E. Sakiz and R. Guillemin
Stimulation of ovulation by purified LH-releasing factor (LRF) in animals rendered on ovulatory by hypothalamic lesion.
Proc. Soc. Exp. Biol. 114 (1963) 426 - 429

Schneider, H.P.G., H.-J. Staemmler, K. Staehler-Pohl und L. Sachs
Hypothalamische LH-Freigabe-Funktion und Clomiphen.
Acta Endocr. 58 (1968) 347 - 352

Stark, D.
Embryologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1965[2], 381 - 383

Steelmann, S.L. and F.M. Pohley
Assay of the follicle stimulating hormone based on the augmentation with human chorionic gonadotropin.
Endocrinology 53 (1953) 604

Stefano, F.J.E. and A.O. Donoso
Norepinephrine levels in the rat hypothalamus during the estrous cycle.
Endocrinology 81 (1967) 1405 - 1406

Taleisnik, S. and S.M. McCann
Effects of hypothalamic lesions on the secretion and storage of hypophyseal luteinizing hormone.
Endocrinology 68 (1961) 263 - 272

Talwalker, P.K., A. Ratner and J. Meites
In vitro inhibition of pituitary prolactin synthesis and release by hypothalamic extract.
Amer. J. Physiol. 205 (1963) 213

Taubenhaus, M. and S. Soskin
Release of luteinizing hormone from the anterior hypophysis by an acetylcholine-like substance from the hypothalamic region.
Endocrinology 29 (1941) 958 - 964

Tejasen, T. and J.W. Everett
Surgical analysis of the preoptico-tuberal pathway controlling ovulatory release of gonadotropins in the rat.
Endocrinology 81 (1967) 1387 - 1396

Van Rees, G.P.
Influence of steroid sex hormone on the FSH-Release by rat hypophyses in vitro.
Acta Endocr. (Kbh.) 36 (1961) 485

Van Rees, G.P., J.J. van der Werff ten Bosch and O.L. Wolthuis
Prolonged vaginal oestrus on the normal oestrus cycle in the rat.
I Morphological Observation
Acta Endocr. 40 (1962) 95 - 102

Van Rees, G.P. and O.C. Wolthuis
Influence of testerone, progesterone and oestradiol on the FSH-release of hypophyses grafted under the kidney capsule.
Acta Endocr. 39 (1962) 103 - 109

Westman, A. und D. Jacobsohn
Endokrinologische Untersuchungen an Ratten mit durchtrenntem Hypophysenstiel.
1. Mitteilung: Hypophysenveränderungen nach Kastration und nach Oestrinbehandlung.
Acta Obstetr. Scand. (Schwd.) 18 (1938) 99 - 108

Westman, A. und D. Jacobsohn
Endokrinologische Untersuchungen an Ratten mit durchtrenntem Hypophysenstiel.
3. Mitteilung: Über die luteinisierende Wirkung des Follikelhormons.
Acta Obstetr. Scand. (Schwd.) 18 (1938) 115 - 123

Wurtman, J.R., J. Axelrod and J.E. Fischer
Melatonin synthesis in the pineal gland effect of light mediated by the sympathetic nervous system.
Science 143 (1964) 1328 - 1329

Wurtman, R.J., W. Roth, M.D. Altschule and J. Wurtman
Interactions of the pineal and exposure to continuous light on organ weights of female rats.
Acta Endocr. 36 (1961) 617 - 624

Yamashita, K.
Interstitial cell-stimulating hormone releasing activity of hypothalamic extracts in the dog.
J. Endocr. 35 (1966) 401 - 408

Zondek, B. and I. Tamari
Effect of audiogenic stimulation of genital function and reproduction.
III Infertility induced by auditory stimuli prior to mating.
Acta Endocr. 45 Suppl. 90 (1964) 227 - 234

Lebenslauf

Am 20.6.1942 wurde ich, Fritz Schumm, als Sohn des Archivrats Karl Schumm und seiner Ehefrau Marianne, geb. Hegel in Künzelsau/Württemberg geboren.

Nach der Grundschule in Neuenstein besuchte ich in Schwäbisch Hall das Gymnasium, wo ich im März 1963 das Abitur ablegte.

Mit dem Medizinstudium begann ich im Wintersemester 1963 an der Universität Bonn. Dort bestand ich im Herbst 1964 das Vorphysikum und im Sommer 1966 das Physikum. Für das erste klinische Semester schrieb ich mich an der Universität Mainz ein. Im Sommersemester 1967 wechselte ich an die Medizinische Fakultät der Universität Tübingen, wo ich die übrigen klinischen Semester studierte und im Herbst 1967 an der Universitätsfrauenklinik mit vorliegender Arbeit begann.

Im Sommersemester 1970 beendete ich mein Studium mit dem medizinischen Staatsexamen. Mein Berufsziel ist der Facharzt für Innere Medizin.

Fritz Schumm